

**Escuela Superior Politécnica del Litoral**

**Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas**

Elaboración de un producto de infusión aromática a partir de cáscara de café, para su  
valorización en la industria agroalimentaria.

**Proyecto Integrador**

Previo la obtención del Título de:

**Ingeniero Químico**

Presentado por:

Isabel Carolina Rosado Alcívar

Shirley Lisbeth Gómez García

Guayaquil - Ecuador

Año: 2023

## Dedicatoria

---

A mis padres, Jorge y Shirley, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. Este logro es de ustedes. A mi esposo, Marcos Jimmy, por ser mi compañero fiel, por siempre estar a mi lado brindándome su apoyo y energía para seguir adelante en los momentos más difíciles. A mi hija, Sara, que, aunque no lo sepa, ha sido mi motor para continuar frente a todos los obstáculos que se me han presentado. A todos mis profesores y compañeros de la carrera, por haber hecho de estos años una experiencia inolvidable que ha enriquecido mi formación académica y personal. Llevo los mejores recuerdos.

- **Shirley Gómez García**

## Dedicatoria

---

A mis padres, Carolina y Enrique, por su apoyo incondicional, por acompañarme en cada paso en este camino, por el privilegio de tener oportunidades para crecer personal y profesionalmente. En este trabajo se refleja el esfuerzo de años de estudio y preparación, todo posible gracias al sustento y apoyo incondicional de mi familia, mis padres, mis abuelas, mi hermano, mis tíos y primos, que me han acompañado en cada momento, en cada pequeño logro. Han sido mi ejemplo de esfuerzo y superación, estos valores se reflejan en cada decisión y camino que he tomado.

- **Isabel Rosado Alcívar**

## Agradecimientos

---

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a la Ing. Verónica Ordóñez, por su dedicación y apoyo durante el desarrollo de este proyecto. Sus conocimientos y orientación han sido invaluable para llegar a buen término con esta investigación. Estamos enormemente agradecidas con nuestros tutores Msc. Michael Rendón y Msc. Lorena Quinchuela, por brindarnos consejos y acompañamiento durante todo el proceso. La visión crítica y compromiso de cada uno de ellos han sido fundamentales para el desarrollo del proyecto. Al CIBE y PROTAL, así como a sus técnicos y ayudantes que aportaron en las pruebas realizadas. Sin el apoyo invaluable de todos ustedes no hubiera sido posible concretar este proyecto.

## Declaración Expresa

---

Nosotros Isabel Carolina Rosado Alcívar y Shirley Lisbeth Gómez García acordamos y reconocemos que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor o autores. La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por mí/nosotros durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que me/nos corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de mi/nuestra innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique al/los autor/es que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 26 de enero del 2024.



---

Isabel Carolina Rosado  
Alcívar



---

Shirley Lisbeth Gómez  
García

## **Evaluadores**

---

**María Verónica Ordoñez Pazmiño**

Profesor de Materia

---

**Michael Rendón**

Tutor de proyecto

---

**Lorena Quinchuela**

Tutora de proyecto

## Resumen

La cáscara de café es un residuo generado en abundancia durante el procesamiento del café, y los esfuerzos por promover su adecuada disposición y aprovechamiento son insuficientes. Este proyecto estudia el tratamiento de la cáscara para elaborar infusiones aromáticas aprovechando sus compuestos bioactivos como cafeína y ácido clorogénico. Se evaluó el efecto de tres variables: tamaño de partícula, método de extracción y tipo de beneficio de café. Fueron analizadas en términos de características fisicoquímicas, y químicas de los extractos, incluyendo la concentración de polifenoles y aminoácidos por HPLC, la cuantificación de la capacidad antioxidante (DPPH), pH y grados Brix. Adicionalmente, se realizó un análisis de aceptabilidad y preferencia entre muestras mediante un panel sensorial, y se verificó la conformidad con los requisitos de la norma INEN 2392. El rendimiento de la extracción se favorece para tamaños de partícula entre 0.85-0.60 mm, mediante microondas y cáscara obtenida mediante beneficio seco, según resultados de la caracterización y panel sensorial. Infusiones de estas características presentaron actividad antioxidante ( $0.0023\mu\text{molTrolox/ml}\pm 0.00002$ ), cafeína ( $12.92\text{ mg}/100\text{ml}\pm 0.59$ ), ácido clorogénico ( $8.78\text{ mg}/100\text{ml}\pm 2.21$ ) y aminoácidos (entre 0.06 y 3.27 mg/100ml). El producto está dentro de los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos de la norma. La presentación de este producto de infusión aromática potencia la valorización de la cáscara de café ecuatoriano.

**Palabras Clave:** Cáscara de café, infusiones, compuesto fenólicos, capacidad antioxidante, valorización.

## Abstract

Coffee husk is a waste product generated in abundance during coffee processing, and efforts to promote its proper disposal and utilization are insufficient. This project studies husk treatment to elaborate aromatic infusions taking advantage of its bioactive compounds such as caffeine and chlorogenic acid. The effect of three variables was evaluated: particle size, extraction method, and type of coffee processing. These variables were analyzed in terms of physicochemical and chemical characteristics of the extracts, including the concentration of polyphenols and amino acids by HPLC, quantification of antioxidant capacity (DPPH), pH and Brix degrees. In addition, an analysis of acceptability and preference between samples was carried out using a sensory panel, and conformity with the requirements of INEN 2392 was verified. The extraction yield was favored for particle sizes between 0.85-0.60 mm, extract obtained by microwave heating and dry coffee processing husk, according to the results of the characterization and sensory panel. Infusions of these characteristics presented antioxidant activity ( $0.0023\mu\text{molTrolox/ml}\pm 0.00002$ ), caffeine (12.92 mg/100ml), chlorogenic acid (8.78 mg/100ml) and amino acids (between 0.06 y 3.27 mg/100ml). The product is within the physicochemical and microbiological condemnatory limits of the standard. The presentation of this aromatic infusion product enhances the valorization of Ecuadorian coffee husks.

**Keywords:** Coffee husk, infusions, phenolic compounds, antioxidant capacity, valorization.



## Índice general

Resumen.....	I
Abstract.....	II
Índice general.....	III
Abreviaturas.....	VII
Simbología.....	VIII
Índice de figuras.....	IX
Índice de tablas.....	X
1 Capítulo 1.....	1
1.1. Introducción.....	2
1.2. Descripción del problema.....	3
1.3. Justificación del problema.....	4
1.4. Objetivos.....	5
1.1.1 Objetivo general.....	5
1.1.2 Objetivos específicos.....	5
1.5. Marco teórico.....	5
1.1.3 Producción de café en Ecuador.....	5
1.1.4 Beneficio del café.....	7
1.1.5 Partes del grano de café (cereza).....	8
1.1.6 Propiedades y características de la cáscara de café.....	9
1.1.7 Factores influentes en el aprovechamiento de la cáscara.....	10
1.1.8 Bolsas de té: importancia y consideraciones.....	12
1.1.9 Infusión aromática: normativas aplicables.....	12
2 Capítulo 2.....	15

2.1.	Metodología .....	16
2.1.1	Diseño metodológico .....	16
2.1.2	Componentes del experimento.....	17
2.2.	Población y muestra .....	17
2.3.	Condiciones de almacenamiento de la materia prima .....	18
2.4.	Pruebas de humedad.....	19
2.5.	Tratamiento de muestras .....	20
2.1.3	Molienda .....	20
2.1.4	Tamizado.....	21
2.6.	Métodos de extracción .....	22
2.7.	Infusiones: preparación y caracterización inicial.....	22
2.1.5	Preparación de muestras en las bolsas .....	22
2.1.6	Determinación de pH .....	23
2.1.7	Determinación de grados Brix e índice de refracción.....	24
2.8.	Caracterización de muestras y equipo para caracterización.....	24
2.1.8	Elaboración de estándares para el análisis HPLC.....	25
2.1.9	Capacidad de selección o especificidad.....	28
2.1.10	Elaboración de curva de calibración.....	29
2.9.	Caracterización de los extractos .....	32
2.1.11	Cuantificación de polifenoles en muestras mediante el HPLC.....	32
2.1.12	Determinación de aminoácidos presentes.....	33
2.1.13	Determinación de capacidad antioxidante.....	33
2.1.14	Pruebas sensoriales .....	34
2.1.15	Análisis fisicoquímicos y microbiológicos.....	34
2.10.	Análisis estadístico .....	35

3	Capítulo 3 .....	36
3.1.	Resultados y análisis .....	37
3.1.1	Determinación de humedad de materia prima .....	37
3.2.	Molienda y análisis granulométrico .....	38
3.3.	Extracción.....	40
3.4.	pH de extractos.....	41
3.5.	Grados Brix de extractos .....	42
3.6.	Cuantificación de polifenoles y cafeína en infusiones .....	42
3.7.	Cuantificación de aminoácidos .....	45
3.8.	Capacidad antioxidante .....	47
3.9.	Resultados de las pruebas sensoriales .....	47
3.1.2	Análisis de prueba de Preferencia Pareada .....	47
3.1.3	Análisis de prueba de Aceptación General .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
3.1.4	Evaluación de atributos sensoriales .....	48
3.10.	Análisis estadístico .....	49
3.11.	Selección de muestras.....	51
3.12.	Validación con referencia norma INEN 2392 .....	51
3.13.	Diseño de producto.....	52
3.14.	Estudio económico .....	52
3.1.5	Población y Demanda .....	52
3.1.6	Activos .....	52
3.1.7	Ingresos.....	53
3.1.8	Costos fijos y variables .....	53
3.1.9	Flujo de caja.....	54
	Capítulo 4.....	56

4.1	Conclusiones y recomendaciones .....	57
4.1.1	Conclusiones .....	57
4.1.2	Recomendaciones .....	58
5	Referencias .....	60
Anexo 1	.....	64

## Abreviaturas

INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
NTE	Norma Técnica Ecuatoriana
ISO	International Organization for Standardization (Organización Internacional de Normalización)
SGIA	Sistema de gestión de Inocuidad de los Alimentos
ASTM	American Society for Testing and Materials (Sociedad Americana de Pruebas y Materiales)

**Simbología**

mg Miligramo

pH Potencial de Hidrógeno

## Índice de figuras

<b>Figura 1.1</b> Distribución del café en el mundo y en Ecuador .....	6
<b>Figura 1.2</b> Diagrama de bloques beneficiado húmedo y seco del café .....	8
<b>Figura 1.3</b> Partes de un grano de café .....	8
<b>Figura 1.4</b> Subproductos de la industrialización del grano de café .....	9
<b>Figura 1.5</b> Programas Prerrequisitos sobre Inocuidad de los Alimentos - Parte 1: Fabricación de alimentos (ISO 22002:2009).....	14
<b>Figura 2.1</b> Diseño metodológico.....	16
<b>Figura 2.2</b> Componentes del experimento .....	17
<b>Figura 2.3</b> Muestra CTRS de cáscara de café .....	18
<b>Figura 2.4</b> Muestra CSLH de cáscara de café.....	18
<b>Figura 2.5</b> Esquema de tratamiento de muestras .....	20
<b>Figura 2.6</b> Procesos de extracción .....	22
<b>Figura 2.7</b> pH metro usado en la experimentación .....	23
<b>Figura 2.8</b> Refractómetro usado durante los ensayos .....	24
<b>Figura 2.9</b> Almacenamiento de extractos para el análisis cromatográfico. ....	25
<b>Figura 2.10</b> Procedimiento para estudio sensorial mediante panelistas.....	34
<b>Figura 3.1</b> Curvas de secado .....	37
<b>Figura 3.2</b> Análisis granulométrico de muestra CSLH por nivel de molino .....	39
<b>Figura 3.3</b> Análisis granulométrico de muestra CRTS por nivel de molino.....	39
<b>Figura 3.4</b> Infusiones de la muestra CTRS por lixiviación.....	40
<b>Figura 3.5</b> Gráfico de cajas de pH de los extractos .....	41
<b>Figura 3.6</b> Gráfico de cajas de °Brix de los extractos.....	42
<b>Figura 3.7</b> Rendimiento de la extracción de los polifenoles .....	45
<b>Figura 3.8</b> Concentración de aminoácidos en los extractos.....	46
<b>Figura 3.9</b> Preferencia Pareada entre muestras CSLH y CTRS.....	48
<b>Figura 3.10</b> Aceptación General entre muestras CTRS y CSLH.....	48
<b>Figura 3.11</b> Distribución de datos atributos sensoriales entre muestras CTRS y CSLH.....	49
<b>Figura 3.12</b> Mapa de calor de las correlaciones entre variables .....	50
<b>Figura 3.13</b> Presentación del producto .....	52

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.1</b>	Características fisicoquímicas de infusiones de cáscara de café .....	10
<b>Tabla 1.2</b>	Revisión literaria de infusiones preparadas con cáscara de café .....	11
<b>Tabla 1.3</b>	Requisitos Norma INEN 2392 para Hierbas Aromáticas .....	13
<b>Tabla 1.4</b>	Requisitos microbiológicos Norma INEN 1123 .....	13
<b>Tabla 2.1</b>	Información de muestras de cáscara de café.....	18
<b>Tabla 2.2</b>	Detalle de rangos de tamaño de partícula estudiados .....	21
<b>Tabla 2.3</b>	Dimensiones y variaciones permitidas para tamices estándar, especificación ASTM E-11.....	21
<b>Tabla 2.4</b>	Detalle de cantidad de muestras a analizar .....	23
<b>Tabla 2.5</b>	Estándares elaborados.....	25
<b>Tabla 2.6</b>	Concentración y volumen usado para la elaboración de estándares .....	27
<b>Tabla 2.7</b>	Tiempo de retención y longitud de onda de estándares .....	29
<b>Tabla 2.8</b>	Concentración y volumen usados para solución de trabajo a 20 mg/l.....	30
<b>Tabla 2.9</b>	Volumen usado en cada concentración.....	31
<b>Tabla 2.10</b>	Ensayos fisicoquímicos y microbiológicos.....	34
<b>Tabla 3.1</b>	Humedad inicial en muestras CSLH y CTRS, secado en termobalanza.....	37
<b>Tabla 3.2</b>	Masa (g) de muestras CSLH y CTRS retenida en cada tamiz .....	38
<b>Tabla 3.3</b>	Concentración de polifenoles en muestras.....	44
<b>Tabla 3.4</b>	Capacidad antioxidante .....	47
<b>Tabla 3.5</b>	Validación requisitos fisicoquímicos y microbiológicos.....	51
<b>Tabla 3.6</b>	Equipos de planta.....	52
<b>Tabla 3.7</b>	Ingresos .....	53
<b>Tabla 3.8</b>	Costos Fijos.....	53
<b>Tabla 3.9</b>	Costos Variables .....	54
<b>Tabla 3.10</b>	Flujo de caja.....	54



# **Capítulo 1**

## 1.1. Introducción

El café es mucho más que una bebida, representa un pilar económico y cultural para Ecuador y numerosos países. La industria cafetera, que engloba desde el cultivo hasta el procesamiento, el comercio, la logística y la comercialización del café, brinda sustento a millones de familias en todo el mundo (Figuerola et al., 2011). A medida que la demanda de café continúa creciendo en el mercado mundial, surge un desafío crítico: defectos en la gestión de los subproductos de la producción de café. Actualmente, solo un 17% de producción mundial de café es sostenible (Gustavo A. Jiménez et al., 2012).

Desde hace varias décadas, investigadores han focalizado su atención en los residuos agroindustriales y su posible utilización y aprovechamiento para generar insumos de otros procesos industriales (Saval, 2012). Este enfoque se ha extendido a la industria cafetera, específicamente en la cáscara de café que se caracteriza por presentar metabolitos secundarios, como la cafeína, y ácidos fenólicos como el ácido clorogénico, siendo así una fuente potencial para la obtener compuestos bioactivos de interés (Silva et al., 2020). La cáscara de café es un residuo o subproducto generado en altas proporciones durante el procesamiento del grano de café, con valor agregado y, por ende, potencialmente comercializable.

Este estudio se enfoca en usar cáscara de café para elaborar una infusión que contenga propiedades vinculadas a la función biológica de sus compuestos fenólicos, como actividades antioxidantes, antiinflamatorias y estimulantes (Silva et al., 2020). Con ello se otorga una nueva vida a la cáscara de café, promoviendo la innovación en procesos de producción más limpios y ecoeficientes.

## 1.2. Descripción del problema

La producción de café en Ecuador representa un pilar para el progreso socioeconómico, por ello se impulsa la formación de estrategias para mejorar la productividad, competitividad, y sostenibilidad de la caficultura. Sin embargo, en el proceso de producción, más del 90% de la cereza de café se desecha como residuo agrícola (Del Castillo et al., 2020). Es desproporcional la cantidad de recursos empleados y desechos generados con la cantidad de café producido, lo que plantea problemas de sostenibilidad y desperdicio de recursos (Cortés et al., 2020).

En el norte de Ecuador, el 58% de los caficultores no realizan tratamientos adecuados de los subproductos, dejan la pulpa para su descomposición o la descartan en cuerpos hídricos (Suárez, 2018). La gestión inadecuada de estos residuos contribuye al problema de acumulación de desechos sólidos y, además, su descomposición y fermentación en cuerpos de agua impacta significativamente en la estructura de los ecosistemas, la liberación de ácidos orgánicos y la emisión de metano provocan perturbaciones en el equilibrio del pH, la presencia de sólidos suspendidos y la demanda química de oxígeno (Ruiz et al., 2021).

Las diferentes especies de café cosechadas a nivel nacional plantean un desafío al definir un proceso estándar de reutilización de la cáscara, considerando además los diferentes métodos de extracción del grano existentes en la industria. Esto afecta la proporción de los componentes bioactivos en el producto derivado (Heeger et al., 2017), se debe considerar también que las mejoras en el cultivo siempre serán para afinar la calidad del café, no de los subproductos. Por ello, es esencial abordar parámetros relacionados con el procesado de las cáscaras de café, de manera que prevalezca la composición de nutrientes y bioactivos propios de este subproducto, siendo aquellos de mayor interés: taninos, cafeína, fenoles, polifenoles y alcaloides; estos compuestos lo convierten en fuente potencial de agro industrialización (Torres-Valenzuela et al.,

2019). La propuesta de valor se enfoca en un producto derivado de cáscaras de café; infusiones aromáticas.

### **1.3. Justificación del problema**

Según International Coffee Organization (2023), Ecuador reporta un incremento del 10.5% en su producción de café en 2021 y 2022, siendo el quinto mayor productor de Sudamérica. Es un importante producto tradicional de exportación que registra USD 33.3 millones de ingreso al país (Aguirre Ilich et al., 2023). Dentro de la industria de productos naturales, la valorización de un subproducto del café resulta de gran interés tanto para investigación científica como para aplicación en el sector agrícola. La productividad de esta área industrial incrementa cada año y con ella la necesidad de optimizar recursos, minimizar desechos en la cadena de suministro y contribuir a la sostenibilidad ambiental.

Se ha impulsado el estudio de potenciales aplicaciones de la cáscara de café, principalmente en la industria alimentaria, pues posee una serie de azúcares, bioflavonoides, y ácidos clorogénicos; además, su concentración de compuestos fenólicos con capacidad antioxidante es significativa (Heeger et al., 2017).

El té es una bebida tradicional a nivel mundial, cuya presentación facilita la infusión en agua (Bassi et al., 2020) y permite la preparación personalizada del consumidor. Por ello se ha implementado a nivel nacional la reutilización de cáscara entera de café para infusiones aromáticas, sin embargo, actualmente no se ha profundizado su potencial en el mercado en diferentes presentaciones y que cumplan con las regulaciones nacionales pertinentes.

Valorizar la cáscara de café potencia su comercialización, se estima que aumentaría en un 20% los ingresos por quintal de café que percibe cada productor (Ramos, 2023). Ampliar y

enriquecer las actividades en una cadena de producción con un enfoque nuevo, permite a los productores acceder a nuevos mercados, y mejorar la competitividad. Este proyecto se fundamenta en su potencial para abordar problemas ambientales, económicos y de sostenibilidad en la industria cafetera.

## **1.4. Objetivos**

### ***1.4.1. Objetivo general***

Desarrollar una infusión aromática a partir de cáscaras de café mediante la evaluación de parámetros físicos, químicos, fisicoquímicos y nutraceúticos, para la diversificación de la cadena de valor de la industria cafetera.

### ***1.4.2. Objetivos específicos***

1. Analizar la granulometría de las muestras de cáscara de café para determinar las condiciones de operación del molino.
2. Establecer la relación entre el método de pretratamiento y el tamaño de partícula del producto final mediante la identificación de los compuestos bioactivos en las infusiones, tales como aminoácidos, polifenoles y cafeína, y la determinación de su capacidad antioxidante.
3. Realizar análisis fisicoquímicos y microbiológicos a las muestras del producto terminado, para el cumplimiento de los parámetros registrados en la normativa INEN NTE 2392.

## **1.5. Marco teórico**

### ***1.5.1. Producción de café en Ecuador***

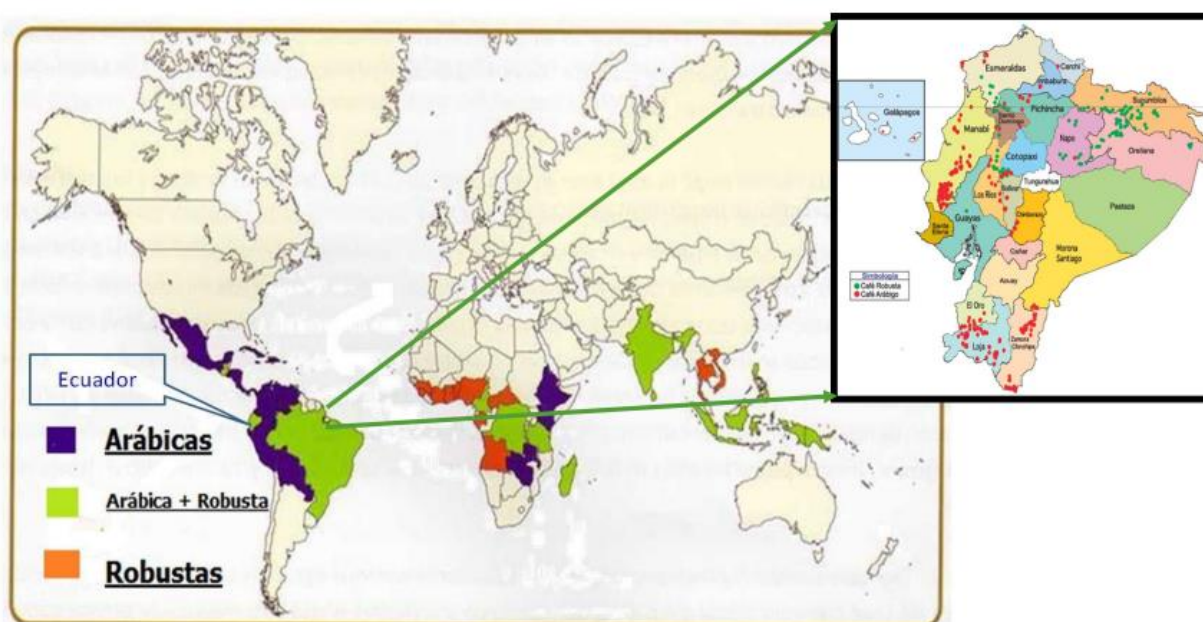
Ecuador es uno de los escasos países que exporta diversos tipos de café, que incluyen el arábigo lavado, el arábigo natural y el robusta. La diversidad de ecosistemas que abarca todo el territorio ecuatoriano permite el cultivo de café en todas las regiones, principalmente en la Costa

y Sierra (Chango & García. 2021). Entre enero y octubre del 2023, Ecuador exportó 11,728 toneladas de café tostado, y 421,248 sacos de 60 kg entre tostado e industrializado (SIPA, 2023).

En el país, se producen principalmente dos especies de café: *Coffea arábica* y *Coffea canephora*, que también es llamada robusta.

### Figura 1.1

*Distribución del café en el mundo y en Ecuador*



*Nota.* Tomado de (Zapata, 2018).

**Coffea Arábica.** Esta especie es la más comercializada a nivel mundial, en Ecuador supone el 75% de la producción total de café. Suele cultivarse en zonas elevadas y con clima húmedo (Benavides y De la Cruz, 2021). La variedad SL-28, que pertenece al Grupo Bourbon-Típica, destaca su alto rendimiento de cereza a grano pergamino.

**Coffea Canephora.** El café robusta constituye alrededor del 25% de la producción en Ecuador. Esta variante ha demostrado una adaptación exitosa a las regiones bajas de la costa ecuatoriana. Las principales variedades de robusta cultivadas son Robusta e Indo (INIAP, 1993).

### ***1.5.2. Beneficio del café***

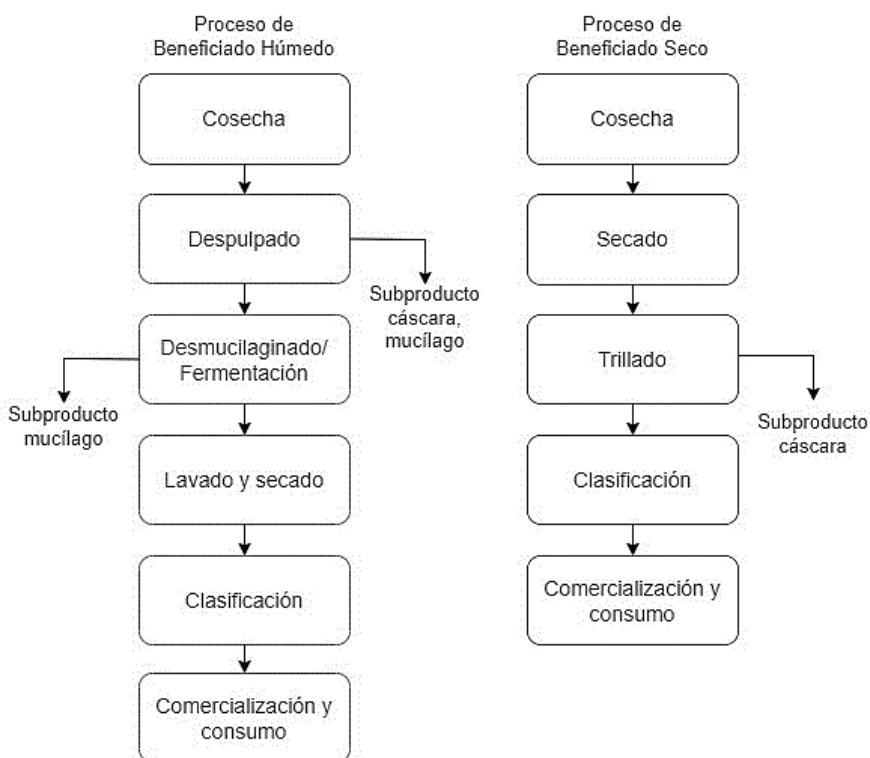
La alta calidad del café comercializado recae en las estrategias de manejo de las plantaciones, condiciones ambientales, tratamiento de suelos, la recolección de frutos maduros y procesos postcosecha: beneficio húmedo y beneficio seco (Heredia, 2011). El beneficio del café comprende todas las operaciones necesarias para transformar la cereza de café en pergamino seco (Mantilla, 2019). El método varía según el tipo de cultivo y especie del café.

**Beneficio húmedo.** Se realiza empleando agua, inicia separando la pulpa de forma mecánica en equipos a presión, luego en la fermentación se desprende el mucílago del pergamino, proceso posteriormente acompañado por lavado y secado.

**Beneficio seco.** La cereza es secada al sol durante varios días hasta alcanzar un porcentaje de humedad fijo, para luego extraer el grano de café. Se atribuye a este método la impregnación de componentes del mucílago en la semilla.

**Figura 1.2**

*Diagrama de bloques beneficiado húmedo y seco del café.*



### 1.5.3. Partes del grano de café (cereza)

**Figura 1.3**

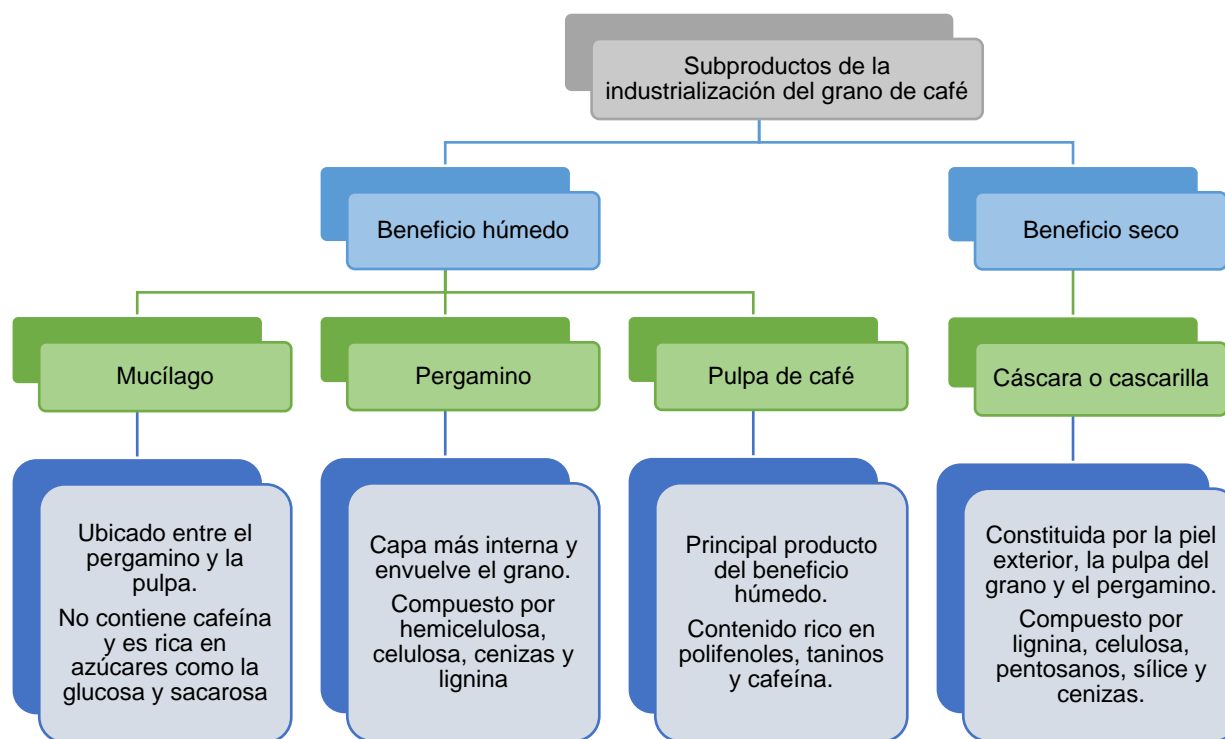
*Partes de un grano de café.*



*Nota.* Tomado de (Yepes & Godoy, 2021)

En la figura 1.3 se esquematizan las partes del grano de café. A continuación, se detallan los residuos generados en los beneficios húmedos y secos del café.



**Figura 1.4***Subproductos de la industrialización del grano de café*

*Nota.* Información adaptada de (Noriega et al., 2008; Yepes & Godoy, 2021).

**1.5.4. Propiedades y características de la cáscara de café**

La cascara de café obtenida con el beneficio húmedo es alrededor del 43,58 % del peso del fruto seco y posee alrededor del 86 % de agua. Contiene niveles significativos de cafeína, que constituye alrededor del 1,3 % de su peso en forma seca, además de otros elementos. Estos dos subproductos del café son abundantes en carbohidratos, proteínas, pectinas y compuestos beneficiosos como los polifenoles. (Murthy & Madhava, 2012)

Los principales biocomponentes que se presentan en el café son los ácidos clorogénicos, formados por la unión entre el ácido cafeico y el ácido quínico, tienen una capacidad antioxidante importante y también propiedades estimulantes, expectorantes, diuréticas, coleréticas

y protectoras del hígado, así como la cafeína, la cual es considerada una de las sustancias psicoactivas más consumidas mundialmente. La cafeína es un alcaloide metilxantina que pertenece a la familia de los alcaloides, se le atribuyen múltiples beneficios para la salud, ya que actúa sobre el sistema nervioso central, cardiovascular, respiratorio, renal y muscular (Torres-Valenzuela et al., 2019).

Arpi et al. (2021) en su estudio plantea las diferencias en propiedades fisicoquímicas en infusiones preparadas con agua caliente a base de cáscara de café con diferentes pretratamientos aplicados (Tabla 1-1).

**Tabla 1.1**

*Características fisicoquímicas de infusiones de cáscara de café.*

<b>Pretratamiento/ Beneficio</b>	<b>Cafeína (%)</b>	<b>Tanino (mg/L)</b>	<b>Actividad antioxidante</b>	<b>pH</b>	<b>Total Ácidos (%)</b>
Seco	0.37	45	53-78%	4.18	2.02
Húmedo	0.45	28.5	53-78%	5.15	0.87

*Nota.* Tomado de Arpi et al., (2021)

### **1.5.5. Factores influyentes en el aprovechamiento de la cáscara**

**Secado de la cáscara.** Según (Torres-Valenzuela et al., 2019), el secado es el mejor tratamiento realizado en la cascara de café para poder preservar los componentes de interés y prolongar el tiempo de vida de esta. Estudio el efecto de la temperatura de secado en las propiedades fisicoquímicas, determinando que el mejor método para la cáscara de café obtenida por beneficio húmedo es secado convectivo con aire a 60 °C por 7 horas.

**Tamaño de partícula.** Partículas de menor granulometría aumentan la actividad antioxidante del extracto (Lobos, 2019). En su investigación Taralkar et al. (2016), indica que “las partículas más pequeñas tienen una trayectoria difusional más corta y más alta superficie

específica, ambos factores ayudan a aumentar la recuperación del soluto. Farakte et al. (2016) en su estudio cinético de infusiones de té, determina que para tamaños de 0.83 mm y superiores, la velocidad de dilución es mucho mayor que la velocidad de difusión, mientras que para una granulometría de 0.33 mm las limitaciones de transferencia de masa se eliminan.

**Métodos de extracción.** Diversos estudios buscan aprovechar los compuestos bioactivos presentes en extractos de cáscara de café,

**Tabla 1.2**

*Revisión literaria de infusiones preparadas con cáscara de café.*

	Silva et al. (2012)	Murthy & Naidu (2012)	Castillo et al. (2013)
Pretratamiento	Circulación forzada de aire por 48h, molienda en molino de bolas.	Vaporizado a presión, Vicozyme 1% y secado.	Molienda en molino de colas con nitrógeno líquido.
Método de extracción	Baño de agua, ultrasonido	Aparato de Soxhlet	Sistema con extracción acelerada con disolventes ASE 200-Dionex .
Solvente(s)	Agua, etanol puro, 1:1 etanol y agua	Solución isopropanol y agua 60:40 v/v	Agua supercrítica, agua caliente
Relación muestra:solvente	1:10 p/v	1:10 w/v	1:11 w/v (supercrítica) 1:2 (caliente)
Temperatura y Presión	60°C (baño) 35°C (ultrasonido)	27°C (±2)	50-200°C, 1500 psi (supercrítica) 100°C, 1 atm (caliente)
Tiempo de extracción	1 hora	30 min	20 min (supercrítica) 10 min (caliente)
<b>Conclusiones</b>	Baño de agua presentó mejores resultados. Mezcla agua: etanol (1:1) es mejor en recuperación de compuestos antioxidantes.	Las muestras con tratamiento presentan mejor rendimiento y capacidad antioxidante.	Extracción con agua supercrítica supera en contenido de ácido clorogénico y cafeína a la extracción con agua caliente.

Si bien existen diversos métodos prometedores, para una infusión o bebida resulta más apropiado el uso de agua caliente en términos de seguridad alimentaria, costos, simplicidad, sabor, y sostenibilidad.

#### ***1.5.6. Bolsas de té: importancia y consideraciones***

Las bolsas de té prevalecen en la industria alimenticia ya que son convenientes, fáciles de usar y desechar. Para su diseño se consideran el material, tamaño de poros, forma, capacidad de carga, tiempo de retención y temperatura (Bassi et al., 2020b). Tejidos con mayor porosidad permiten mayor permeabilidad de los componentes del té través de la bolsa. Jha et al. (2020) plantean que la cinética de infusiones en tejido poroso para bolsas de té está determinada predominantemente por la difusión dentro del té, la permeabilidad del lecho del té dentro de la bolsa y la agitación fuera de esta. Este estudio determinó que el nylon presenta mayor porosidad con 62%. Mientras que la porosidad del algodón está entre 77.88 – 83.67%. (Yong et al., 2021)

#### ***1.5.7. Infusión aromática: normativas aplicables***

Deben considerarse los estándares de calidad ecuatorianos para la fabricación, producción, elaboración, preparación, empaquetado, almacenamiento y comercialización de alimentos procesados para consumo humano. La NTE INEN 2392 (2017) define *hierbas aromáticas* como planta o parte de ella que contiene sustancias aromáticas y sabor característico, destinado para la preparación de bebidas por infusión.

**Tabla 1.3**

*Requisitos Norma INEN 2392 para Hierbas Aromáticas.*

	<b>Requisitos</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite de aceptación</b>
	Humedad	% m/m	12
<b>Físico químicos</b>	Cenizas insolubles en ácido clorhídrico	% m/m base seca	3.5
	<i>Escherichia coli</i>	UFC/g	1 x 10 <sup>2</sup>
<b>Microbiológicos</b>	<i>Salmonella</i>	UFC/25 g	-
	<i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	1 x 10 <sup>4</sup>
	<i>Clostridium perfringens</i>	UFC/g	1 x 10 <sup>3</sup>

*Nota.* Tomado de NTE INEN 2392 (2017).

En el café despulpado se encuentran levaduras y bacterias lácticas, así como bacterias y algunos hongos (Puerta, 2022). En la norma NTE INEN 1123 (2016) se establecen los siguientes límites condinatorios para el café tostado en grano o molido.

**Tabla 1.4**

*Requisitos microbiológicos Norma INEN 1123.*

	<b>Requisitos</b>	<b>Unidad</b>	<b>Límite de aceptación</b>
<b>Microbiológicos</b>	Mohos y levaduras	UFC/g	100

*Nota.* Tomado de INEN, (2016).

La norma NTE INEN-ISO/TS 22002-1 especifica los requisitos que debe cumplir una entidad para implementar un SGIA(LRQA, 2009). Caficultores que opten por expandir su cadena de valor deben incorporar un sistema que asegure la seguridad alimentaria, aplicando estas normas para optimizar la cadena productiva. Para la preparación de muestras se consideraron fundamentos de esta norma, particularmente la separación de áreas y desinfección de equipos antes y después de su uso para evitar el cruce de muestras.

**Figura 1.5**

*Programas Prerrequisitos sobre Inocuidad de los Alimentos - Parte 1: Fabricación de alimentos (ISO 22002:2009).*

<b>8. Idoneidad, Limpieza y Mantenimiento de los Equipos</b>	<b>10. Medidas para prevenir la Contaminación Cruzada.</b>	<b>11. Sanitización (Limpieza y Desinfección)</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>· Los equipos que entren en contacto con alimentos deben facilitar la limpieza, desinfección y mantenimiento.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>· Identificar áreas de potencial contaminación microbiológica cruzada, separar materia prima del producto terminado.</li><li>· Contaminación física: evitar equipos de materiales quebradizos.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>· Establecer programas de sanitización para asegurar condiciones higiénicas.</li><li>· Identificar agente y utensilios claramente.</li></ul>

*Nota.* Aspectos destacados de los requisitos para la elaboración de alimentos que son pertinentes en este estudio. Adaptado de Norma Técnica ISO/ TS 22002-1:2009.(LRQA, 2009)

## **Capítulo 2**

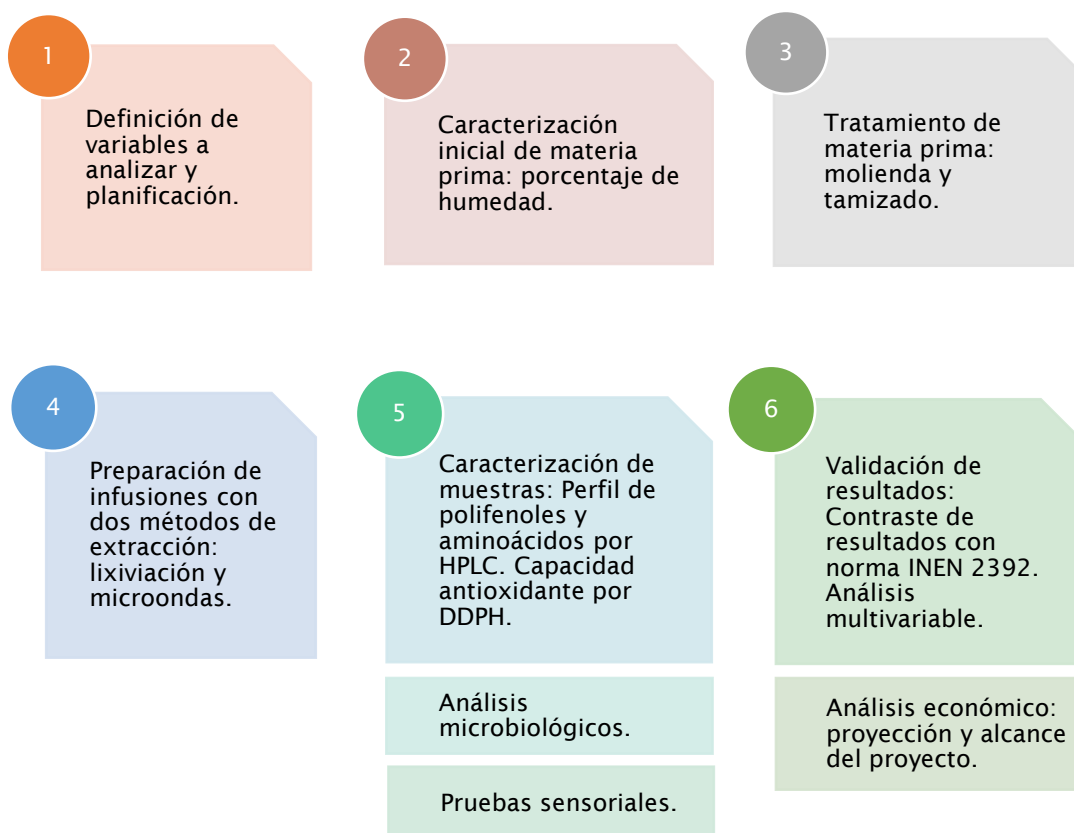
## 2.1 Metodología

### 2.1.1. Diseño metodológico

En este proyecto, se ha implementado una investigación experimental-mixta (Grajales, 2000) donde la fase experimental consiste en la manipulación intencional de una variable o varias variables para analizar sus resultados (Hernández-Sampieri & Mendoza, 2018). Las fases del diseño metodológico se muestran en la Figura 2.1

**Figura 0.1**

#### *Diseño metodológico*



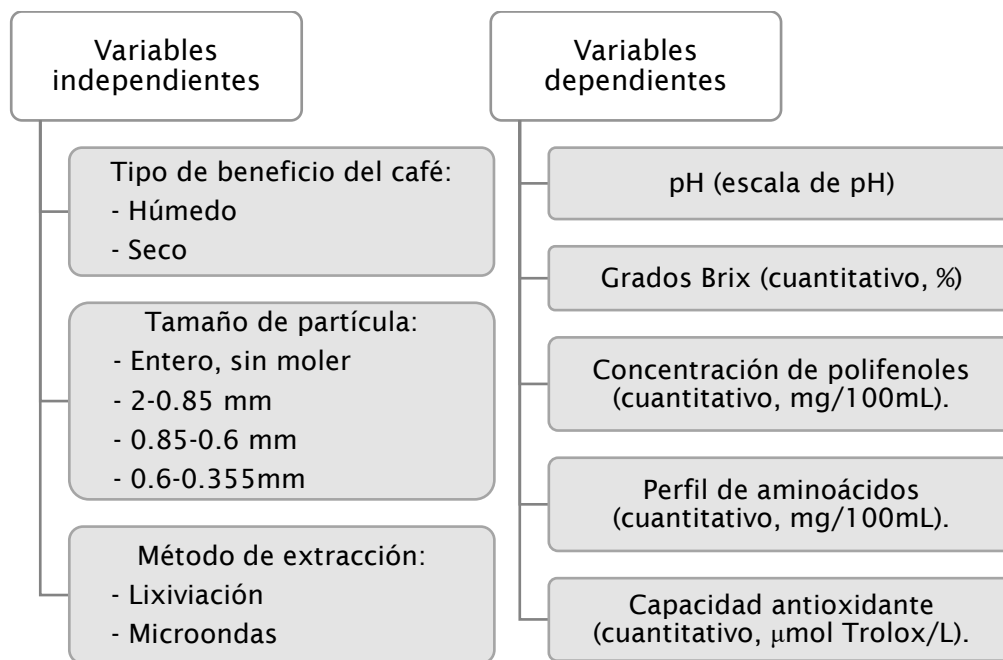


### 2.1.2. Componentes del experimento.

Previo a definir la metodología experimental y planificar el tratamiento de muestras, se establecieron las variables dependientes e independientes. El diseño de la experimentación es del tipo exploratorio, específicamente del tipo factorial fraccionado completo (Gutiérrez & de la Vara, 2008). Se buscó determinar la influencia del tamaño de partícula, método de extracción y el tipo de beneficio en las propiedades químicas, físicas y fisicoquímicas del producto final.

### Figura 0.2

Componentes del experimento



### 2.2. Población y muestra

Para este trabajo se seleccionaron dos muestras de cáscara de café, pertenecientes a las especies *Coffea Arabica*.y *Coffea Canephora (Robusta)*. Una distinción importante entre ambas muestras es el tipo de beneficio aplicado para extraer el grano.

**Tabla 0.1**

*Información de muestras de cáscara de café.*

<b>Muestra</b>	<b>Detalle</b>	<b>Lugar Procedencia</b>	<b>Especie</b>	<b>Variedad</b>	<b>Beneficio aplicado</b>
CTRS	Cáscara seca	Manabí	<i>C. Arábica/ C. Canephora</i>	<i>Typica/Robusta</i>	Seco
CSLH	Cáscara seca	Pichincha	<i>Coffea Arabica</i>	<i>SL-28</i>	Húmedo

*Nota.* “CTRS” se refiere a muestra de Cáscara de tipo Typica y Robusta, de beneficio Seco.

“CSLH” se refiere a muestra de Cáscara de tipo SL-28, de beneficio Húmedo.

A partir de este punto, las variedades de muestras de cáscara de café en este estudio serán referidas como “Muestra CTRS” y “Muestra CSLH”.

**Figura 0.3**

*Muestra CTRS de cáscara de café*

**Figura 0.4**

*Muestra CSLH de cáscara de café.*



### **2.3. Condiciones de almacenamiento de la materia prima**

Las muestras sin tratar se almacenaron dentro de bolsas de polietileno de baja densidad de tamaño 25x35 cm, las bolsas fueron cerradas herméticamente, con temperatura máxima ambiental de 25°C.

## 2.4. Pruebas de humedad

La revisión de las normas INEN permitió establecer un porcentaje de humedad fijo de 10% en base húmeda que las muestras deben tener antes de ser procesadas. Se realizaron pruebas de humedad en una termobalanza marca KERN & Sohn, modelo MLS-50-3, serie WL 083266 para determinar el contenido de humedad inicial de las muestras. Se ajustó la temperatura a 60°C y tomaron datos cada 5 minutos para construir las curvas de humedad libre vs tiempo. El equipo detiene su operación cuando se alcanza la humedad de equilibrio.

$$X_{bs} = \frac{m_{sh} - m_{ss}}{m_{ss}} \times 100\% \rightarrow X_{bh} = \frac{X_{bs}}{1 + X_{bs}} \times 100\% \quad (2.1)$$

*Donde:*

$X_{bh}$  = Humedad en Base Seca (%)

$X_{bh}$  = Humedad en Base Húmeda (%)

$m_{ss}$  = Masa de sólido seco (g – sólido seco)

$m_{sh}$  = Masa de sólido húmedo (g – sólido seco + g – H<sub>2</sub>O)

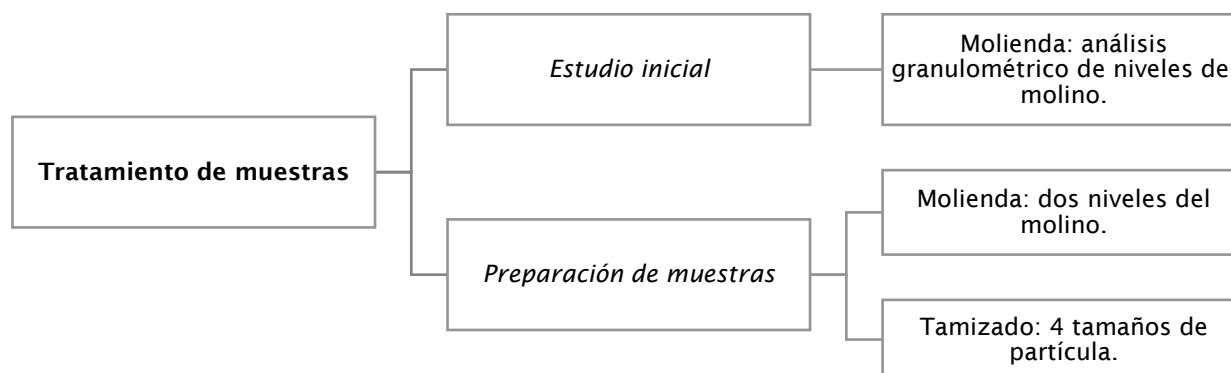
Muestras con baja permeabilidad y color oscuro interfieren con la radiación emitida por el equipo (Kern & Sohn GmbH, 2013). Puesto que las muestras de cáscaras de café tenían formas y tamaños irregulares (Figura 0.3 y Figura 0.4) se procedió a moler/machacar en un mortero y así desmenuzarlas a un tamaño menos voluminoso. Las muestras se reparten de uniformemente sobre el platillo para facilitar la transferencia de calor.

## 2.5. Tratamiento de muestras

Puesto que ambas muestras tenían bajos contenidos de humedad (menor a 10% en base húmeda), se procedió directamente con la molienda y tamizado. En la Figura 2.5 se detalla el proceso.

### Figura 0.5

*Esquema de tratamiento de muestras*



#### 2.5.1. Molienda

El molino empleado Break Mill SM 3 de la marca Brabender, consta de un bloque giratorio motorizado con placas de corte, la distancia entre ellas es ajustable mediante una rosca (Brabender GmbH & Co. KG, 2010). La molienda inicial fue acompañada de un análisis granulométrico, a fin de establecer el nivel de ajuste de la rosca adecuado para procesar las muestras. Se realizaron pruebas en el molino con en los niveles: 3, 1 y 0, con 100 gr de cada muestra para cada nivel. Para construir la curva de este análisis, se determina el %Pasante, que es la diferencia entre el %Retención Acumulado en la base y en cada tamiz. Se interpolan los %Pasante para calcular el D80, que representa el tamaño de malla teórica permite el 80% del producto como pasante.

Se definieron cuatro rangos de tamaños de partícula para el estudio.

**Tabla 0.2**

*Detalla de rangos de tamaño de partícula estudiados.*

<b>Tamaño</b>	<b>Descripción/Medida</b>
Tamaño 1	Entero, sin moler
Tamaño 2	2 – 0.850 mm
Tamaño 3	0.850 – 0.600 mm
Tamaño 4	0.600 – 0.355 mm

Posteriormente se realizó una nueva molienda de cáscaras con el nivel de molino que permite obtener la mayor cantidad de muestra de los tamaños de partícula de interés. Se emplearon 100 gramos de las muestras CTRS y CSLH para cada molienda.

### **2.5.2. Tamizado**

Se llevo a cabo en el equipo “Portable Sieve Shaker” de Tyler modelo RX-24, con una serie de tamices estándar de la especificación ASTM E-11. Para la preparación de las muestras que serían usadas para extraer infusiones aromáticas, se volvió a tamizar usando los tamices de serie 10, 20, 30 y 45, para así obtener los cuatro tamaños de partículas de estudio (Tabla 0.2).

**Tabla 0.3**

*Dimensiones y variaciones permitidas para tamices estándar. especificación ASTM E-11*

<b>No. Serie</b>	<b>Tamaño estándar</b>	<b>Variación permitida de la apertura promedio</b>	<b>Apertura individual máxima</b>
10	2.0 mm	±070 mm	2.215 mm
14	1.4 mm	±050 mm	1.565 mm
20	850 µm	±35 µm	970 µm
30	600 µm	±25 µm	695 µm
40	425 µm	±19 µm	502 µm
45	355 µm	±16 µm	425 µm

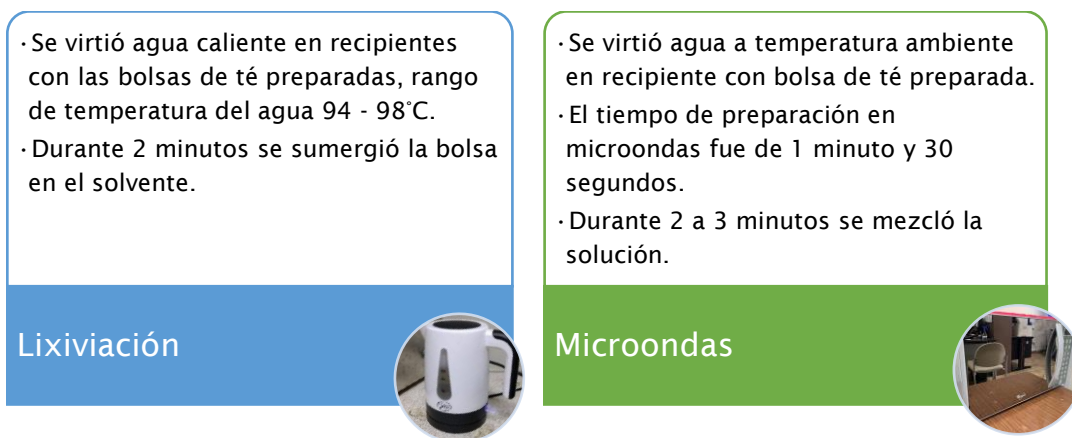
*Nota.* Tomado de Especificación estándar de EE. UU. para tamices ASTM E11.

## 2.6. Métodos de extracción

Una de las variables que se deseó conocer su influencia en la calidad del producto final es el método de extracción, por lo que se realizaron dos diferentes técnicas: lixiviación y extracción por microondas. Para ambos procesos, la extracción se realizó en vasos térmicos de poliestireno expandido de 6 onzas, y se colocó volumen de 120 ml de agua potable desionizada envasada en cada uno.

### Figura 0.6

#### *Procesos de extracción*



## 2.7. Infusiones: preparación y caracterización inicial

### 2.7.1. *Preparación de muestras en las bolsas*

Se pesaron 2 gr de cáscara de café molida y tamizada, se colocaron en diferentes bolsitas de acuerdo con su tamaño de partícula y el tipo de cáscara. Las bolsas usadas fueron de algodón, de dimensiones 2.16 x 2.75 pulgadas (5.78 x 6.98 cm). Se prepararon muestras para los dos tipos de extracción y se realizaron 3 repeticiones por cada variable. En total 48 muestras.

**Tabla 0.4**

*Detalle de cantidad de muestras a analizar.*

<b>Muestra CTRS</b>		<b>Muestra CSLH</b>	
<b>Lixiviación</b>	<b>Microondas</b>	<b>Lixiviación</b>	<b>Microondas</b>
Tamaño 1 (x3)	Tamaño 1 (x3)	Tamaño 1 (x3)	Tamaño 1 (x3)
Tamaño 2 (x3)	Tamaño 2 (x3)	Tamaño 2 (x3)	Tamaño 2 (x3)
Tamaño 3 (x3)	Tamaño 3 (x3)	Tamaño 3 (x3)	Tamaño 3 (x3)
Tamaño 4 (x3)	Tamaño 4 (x3)	Tamaño 4 (x3)	Tamaño 4 (x3)
<b>Total</b>			<b>48 muestras</b>

*Nota.* Se entiende por “Tamaño 1”, “Tamaño 2”, “Tamaño 3” y “Tamaño 4” los cuatro rangos de tamaño de partícula definidos en Tabla 0.2.

### **2.7.2. Determinación de pH**

Se usó un pHmetro de la marca Thermo Scientific-Orion modelo Star A211, que tiene una precisión de  $\pm 0.01$  unidades de pH. Antes de hacer las mediciones de pH se calibró el equipo con soluciones buffer de pH 4.00 y 7.00.

**Figura 0.7**

*pH metro usado en la experimentación*



### ***2.7.3. Determinación de grados Brix e índice de refracción.***

Se empleó un refractómetro manual de la marca ATAGO, modelo Abbe. Para las mediciones, se agregaron gotas del extracto acuoso filtrado con una pipeta Pasteur sobre el prisma inferior del refractómetro, repartiendo la muestra uniformemente, evitando formación de burbujas de aire. Esto asegura que la luz que atraviesa la muestra sufra la refracción esperada para que el equipo realice una lectura precisa. Luego de agregar la muestra se cierra el refractómetro y se hace la lectura directa a través del ocular, registrando los valores de grados Brix e índice de refracción que se visualizan en las escalas respectivas del equipo.

### **Figura 0.8**

*Refractómetro usado durante los ensayos*



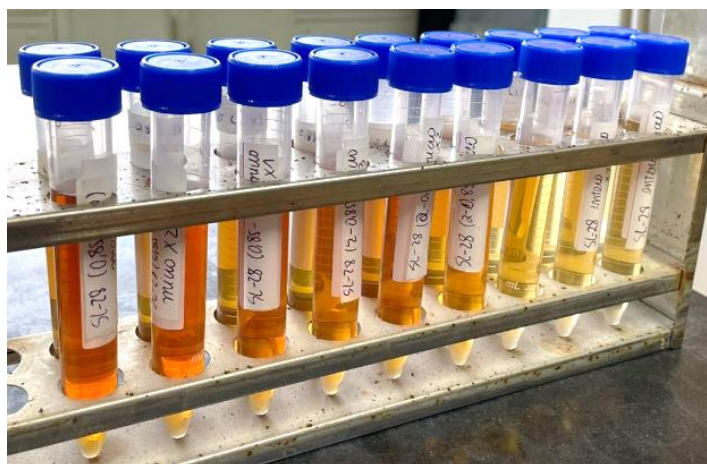
### **2.8. Caracterización de muestras y equipo para caracterización**

A partir de los extractos contenidos en los vasos, se recogieron dos muestras de 10 ml de cada extracto en tubos VORTEX. Los tubos con extracto se colocaron en un congelador a  $-21^{\circ}\text{C}$  para evitar la degradación de la materia orgánica presente.



**Figura 0.9**

*Almacenamiento de extractos para el análisis cromatográfico.*



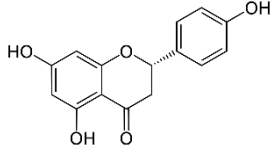
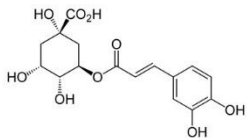
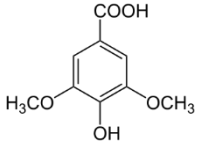
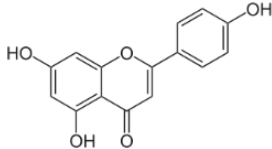
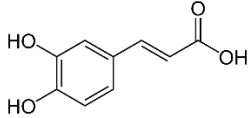
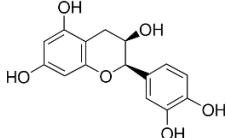
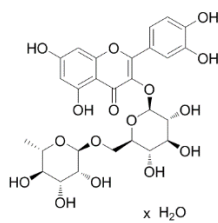
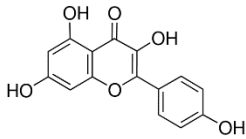
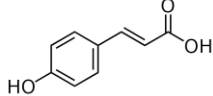
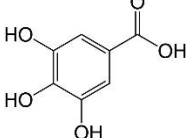
### 2.8.1. *Elaboración de estándares para el análisis HPLC*

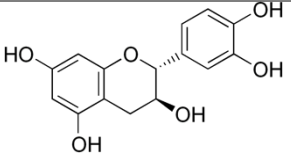
Se prepararon soluciones patrón o estándares de diferentes compuestos fenólicos, presentados en la Tabla 2.5, para así realizar las curvas de calibración, utilizando las cantidades y concentraciones detalladas en la Tabla 2.6. El procedimiento consistió en pesar aproximadamente 5 mg de cada estándar de referencia en matraces volumétricos de 10 ml. Luego se agregó metanol como solvente hasta completar el aforo del matraz. Las soluciones resultantes se cubrieron con papel aluminio para proteger los analitos de la interferencia de la luz durante el almacenamiento.

**Tabla 0.5**

*Estándares elaborados (Freire & Ortiz, 2023)*

No.	Estándar	Marca	Estructura Química
1	Quercetina	USP Reference Standard	
2	Cafeína	Sigma – Aldrich	

3	Naringenina 98 %	SAFC	
4	Ácido clorogénico 95%	Aldrich	
5	Ácido siríngico 95%	Sigma	
6	Apigenina 95%	Sigma	
7	Acido cafeico 99%	Fluka	
8	(-)-Epicatequina 90%	Sigma	
9	Hidrato de Rutina 94%	Sigma	
10	Kaempferol 90%	Sigma	
11	Acido P-coumarico 98%	Sigma – Aldrich	
12	Ácido gálico monohidratado 98+% A.C.S. Reagent	Sigma – Aldrich	

13	Catequina	Sigma – Aldrich	
----	-----------	-----------------	---

**Tabla 0.6**

*Concentración y volumen usado para la elaboración de estándares*

Estándares preparados	Masa (mg)	Volumen metanol (ml)	Concentración en solución estándar stock (mg/l)	Concentración de trabajo (mg/L)	Alícuota (µl)	Agua (µl)	Volumen final (µl)
Quercetina	5,7		570		17,544	982,425	6
Cafeína	7.09		709.2		14.100	985.9	
Naringenina	4.9		490		20.408	979.592	
Ácido clorogénico	4.9		490		20.408	979.592	
Ácido siríngico	4.75		475		21.053	978.947	
Apigenina	3.71	10	370.5	10	26.991	973.009	10000
Acido cafeico	4.26		425.7		23.491	976.509	
Epicatequina	4.23		423		23.641	976.359	
Rutina	5.17		517		19.342	980.658	
Kaempferol	2.25		225		44.444	955.556	
P-coumarico	5.19		519.4		19.253	980.747	
Ácido gálico	6.66		666.4		15.006	984.994	
Catequina	4		400		25.000	975.000	

Una vez preparadas las soluciones estándar de compuestos fenólicos en los matraces volumétricos, éstas se colocaron en un agitador orbital de tubos para asegurar una completa homogenización. Luego de la agitación, las muestras estándar se transfirieron a frascos ámbar de 30 ml, evitando degradación por acción de la luz.

De los estándares de compuestos fenólicos previamente preparados, se tomó un volumen exacto de 1000  $\mu\text{l}$  con una micropipeta y se transfirió a frascos ámbar de vidrio de 2 ml aptos para el equipo de HPLC. Luego, se completó a volumen cada frasco con agua destilada, agregando el volumen necesario mediante una segunda micropipeta de 1000  $\mu\text{l}$ . De esta manera quedaron listas las soluciones estándar en la concentración requerida para inyectar en el cromatógrafo y generar las curvas de calibración respectivas.

El análisis de los compuestos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se realizó en un equipo Waters modelo Arc, acoplado a un detector de UV-visible con arreglo de diodos. La fase móvil consistió en una mezcla binaria de ácido fórmico al 0.1% en agua (solución A) y el mismo ácido en metanol (solución B). Se trabajó en modo gradiente con un flujo constante de 1 ml/min y volúmenes de inyección de 10  $\mu\text{L}$ .

La columna analítica fue una ZORBAX Eclipse XDB-C18 de 4.6 x 150 mm, con un tamaño de partícula de 5  $\mu\text{m}$ . La temperatura del horno de columnas se fijó en 33°C, mientras que la temperatura del muestreador automático se mantuvo a 20°C.

Se seleccionaron las longitudes de onda de 280 nm y 320 nm para el análisis, donde la mayoría de los compuestos fenólicos y la cafeína presentan absorción característica en la radiación UV-VIS, permitiendo una detección selectiva y una mejor separación de los picos en los cromatogramas.

### ***2.8.2. Capacidad de selección o especificidad.***

Se evaluó el desempeño del método cromatográfico inyectando inicialmente solo fase móvil para determinar el tiempo muerto y luego una mezcla de todos los estándares de compuestos

fenólicos a una concentración conocida. Se registraron los tiempos de retención de cada analito, los cuales se confirman por espectrometría de masas.

**Tabla 0.7**

*Tiempo de retención y longitud de onda de estándares*

<b>Estándar</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b>Longitud de onda (nm)</b>
Quercetina	27.405	320
Cafeína	7.622	280
Naringenina	27.650	280
Ácido clorogénico	9.519	320
Ácido siríngico	9.556	280
Apigenina	5.967	320
Ácido cafeico	8.581	320
Epicatequina	9.212	280
Rutina	21.521	280
Kaempferol	4.946	320
P-coumarico	13.432	280
Ácido gálico	2.423	280
Catequina	5.131	280

### ***2.8.3. Elaboración de curva de calibración.***

A partir de las soluciones estándar de referencia previamente preparadas, se realizaron los cálculos necesarios para preparar por dilución una solución de trabajo que contenga una concentración de 20 mg/l de cada uno de los compuestos fenólicos de interés. En la Tabla 2.8 se detallan los volúmenes en microlitros que se tomaron de cada solución estándar para conformar esta solución de trabajo a 20 mg/l.

**Tabla 0.8***Concentración y volumen usados para solución de trabajo a 20 mg/l*

<b>Estándares preparados</b>	<b>Masa (mg)</b>	<b>Concentración en solución estándar stock (mg/l)</b>	<b>Concentración de trabajo (mg/L)</b>	<b>Alícuota (ul)</b>	<b>Agua (ul)</b>	<b>Volumen final (ul)</b>
Quercetina	5,7	570	20	350.877	9649.123	10000
Cafeína	7.09	709.2		282.008	9717.992	
Naringenina	4.9	490		408.163	9591.837	
Ácido clorogénico	4.9	490		408.163	9591.837	
Ácido siríngico	4.75	475		421.053	9578.947	
Apigenina	3.71	370.5		539.811	9460.189	
Acido cafeico	4.26	425.7		469.814	9530.186	
Epicatequina	4.23	423		472.813	9527.187	
Rutina	5.17	517		386.847	9613.153	
Kaempferol	2.25	225		888.889	9111.111	
P-coumarico	5.19	519.4		385.060	9614.940	
Ácido gálico	6.66	666.4		300.120	9699.880	
Catequina	4	400		500.000	9500.000	

Se preparó una solución madre (mix) conteniendo 20 ppm de cada estándar fenólico mediante la adición de los volúmenes calculados (Tabla 2.8) en matraces de 5 y 10 ml que luego se aforaron con agua tipo I. A partir de esta solución mix de 20 ppm se realizaron diluciones en serie para obtener 5 estándares de concentraciones 0.1, 0.5, 1, 5 y 10 mg/l tal como se detalla en la Tabla 2.9. Cada dilución se colocó en matraces aforados que luego se llevaron a volumen final con agua.

**Tabla 0.9***Volumen usado en cada concentración*

<b>Volumen de matraz (ml)</b>	<b>Concentración (mg/l)</b>	<b>Alícuota (ul)</b>	<b>Agua (ul)</b>
5	10	2500	2500
5	5	1250	3750
5	1	250	4750
5	0.5	125	4875
10	0.1	50	9950
10	0.05	25	9975

Se busca validar el método cromatográfico para cuantificar compuestos fenólicos, asegurando exactitud y reproducibilidad de resultados. Se prepararon soluciones estándar a diferentes concentraciones que se analizaron mediante HPLC para evaluar correlación entre concentración de analitos y respuesta instrumental.

Se obtuvieron curvas de calibración y ecuaciones relacionando absorbancia y concentración. Se determinaron límites instrumentales de detección (LDI) y cuantificación (LCI) con una curva de calibración, utilizando desviación estándar residual ( $S_{y/x}$ ) y pendiente ( $b$ ).

La desviación estándar de respuesta (SD) se obtuvo de  $S_{y/x}$ . Los valores de  $S_{y/x}$ ,  $b$  y ordenada al origen se calcularon con la función ESTIMACIÓN LINEAL de Excel aplicada a los datos de calibración.

$$LDI = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{N} + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}} \quad (2.2)$$

Donde:

$\frac{S_{y/x}}{\bar{x}}$  = error tipo de la curva

$b = \text{pendiente}$

$m = \text{número de patrones usadas para elaborarar la curva}$

$N = \text{número total de patrones}$

$x_i = \text{concentración de cada patrón}$

$\bar{x}^2 = \text{media de la concentracion de los patrones}$

El Límite de Cuantificación Instrumental (LCI) fue establecido como 3.3 veces el valor del LDI.

$$LCI = 3.3 * LDI \quad (2.3)$$

A partir del LDI y LCI se logra obtener los limites LDM y LCM de este método, para ello se estableció un peso de muestra de 0.5 kg y un volumen de agua de 10 ml.

$$LDM = \frac{LDI * V_{blanco}}{\text{peso de muestra}} \quad (2.4)$$

$$LCM = \frac{LCI * V_{blanco}}{\text{peso de muestra}} \quad (2.5)$$

## 2.9. Caracterización de los extractos

### 2.9.1. Cuantificación de polifenoles en muestras mediante el HPLC.

Las concentraciones de polifenoles y cafeína en los extractos a partir de cáscara de café se determinaron cuantitativamente mediante curvas de calibración previamente construidas con soluciones estándar de dichos analitos. Se prepararon alícuotas de cada extracto que se inyectaron por triplicado en el equipo HPLC, columna C18. La identificación inequívoca de cada compuesto de interés se realizó comparando los tiempos de retención de sus respectivos picos cromatográficos con aquellos obtenidos para los patrones, empleando las herramientas del software EMPOWER3.



### **2.9.2. Determinación de aminoácidos presentes.**

Se determinó el contenido de aminoácidos en extractos de cáscara de café mediante derivatización pre-columna con 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) y posterior análisis por HPLC con detección UV a 254 nm en columna C18, utilizando un gradiente binario de acetonitrilo y ácido fórmico 0.5% en agua.

### **2.9.3. Determinación de capacidad antioxidante.**

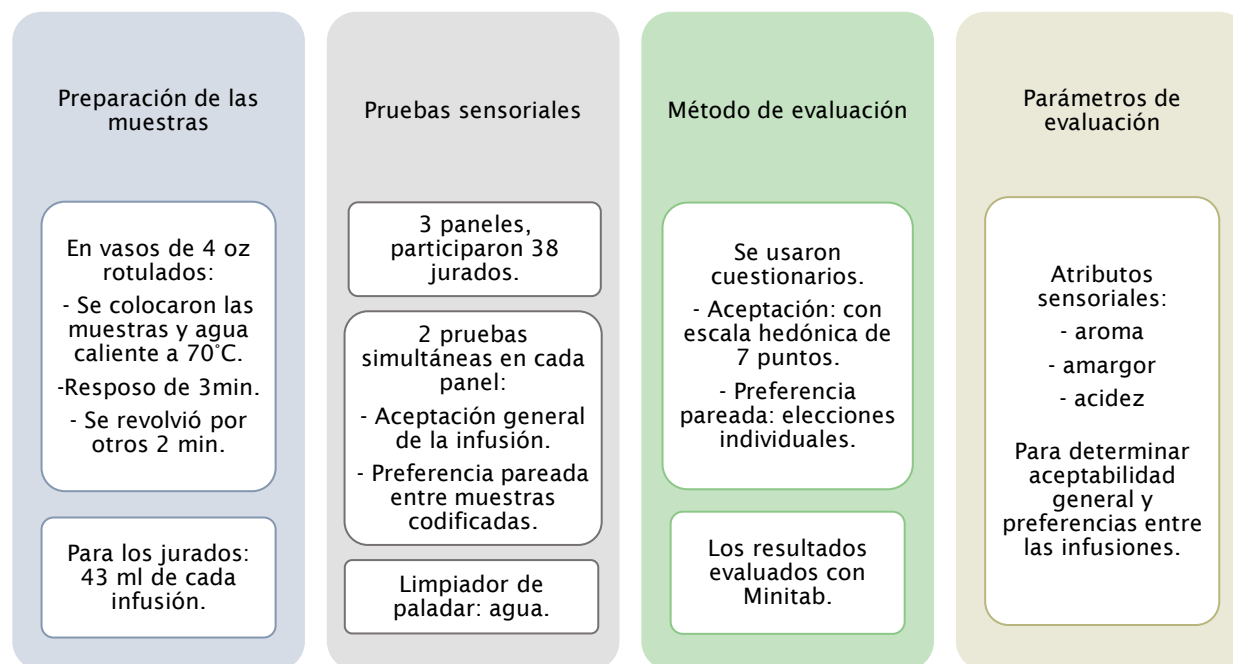
Se determinó la capacidad antioxidante total de extractos de cáscara de café mediante el método del radical DPPH en espectrofotómetro. Alícuotas de los extractos fueron mezcladas con una solución metanólica de DPPH y se dejaron reaccionar en oscuridad. Luego la mezcla fue inyectada en una columna, utilizando metanol como fase móvil en isocrático a 1 ml/min y detección del radical residual a 517 nm. Comparando el área del pico de DPPH frente a un control sin muestra, se estimó el porcentaje de inhibición mediante la ecuación 2.5, reflejando así la actividad captadora de radicales libres por los compuestos antioxidantes presentes en los diversos extractos analizados.

$$\% \text{ inhibicion DPPH} = \frac{\text{Área}_{\text{control}} - \text{Área}_{\text{muestra}}}{\text{Área}_{\text{control}}} * 100 \quad (2.6)$$

## 2.9.4. Pruebas sensoriales

**Figura 0.10**

*Procedimiento para estudio sensorial mediante panelistas*



## 2.9.5. Análisis fisicoquímicos y microbiológicos

**Tabla 0.10**

*Ensayos fisicoquímicos y microbiológicos*

	Ensayo	Método	Descripción
<b>Fisicoquímico</b>	Cenizas insolubles en ácido clorhídrico	ISO 1577	Primero se obtienen las cenizas totales calentando en la mufla a 525 ±25°C por 2 horas (ISO 1575). Disolver en 25 ml de ácido clorhídrico, filtrar y secar nuevamente en mufla.
<b>Microbiológico</b>	<i>Escherichia coli</i>	AOAC 21st 991.14	Método de película seca rehidratable incubación en Placa Petrifilm.
	<i>Bacillus cereus</i>	BAM 8th	Incubación en placas durante 18 – 24 horas a 30°C.
	<i>Clostridium perfringens</i>	AOAC 21st 976.30	Estimación de α-toxina, incubación por 34 horas a 35°.
	Levaduras y Mohos	AOAC 21st 997. 02	Incubación en placas durante 5 días a 20 – 25°C

El análisis microbiológico de las infusiones de cáscara de café se realizó siguiendo procedimientos estandarizado. Transcurrido el tiempo de incubación, se realizó el conteo de las colonias desarrolladas y se expresaron los resultados como Unidades Formadoras de Colonias (UFG) por mililitro de infusión.

## **2.10. Análisis estadístico**

- 1. Organización de Datos.** Codificación de variables cualitativas y organización de datos experimentales en un DataFrame de Pandas con factores y respuestas.
- 2. Relación entre variables.** Determinación de coeficientes de correlación de Pearson usando la librería `scipy.stats`
- 3. Modelado.** Ingreso de datos en software estadístico Minitab y generación de un informe MANOVA.
- 4. Análisis Estadístico.** Evaluación de significancia de efectos principales e interacciones.
- 5. Visualización de Resultados.** Obtener correlogramas para la interpretación del análisis multivariable, gráfica de residuos.

## Capítulo 3

### 3.1. Resultados y análisis

#### 3.1.1. Determinación de humedad de materia prima

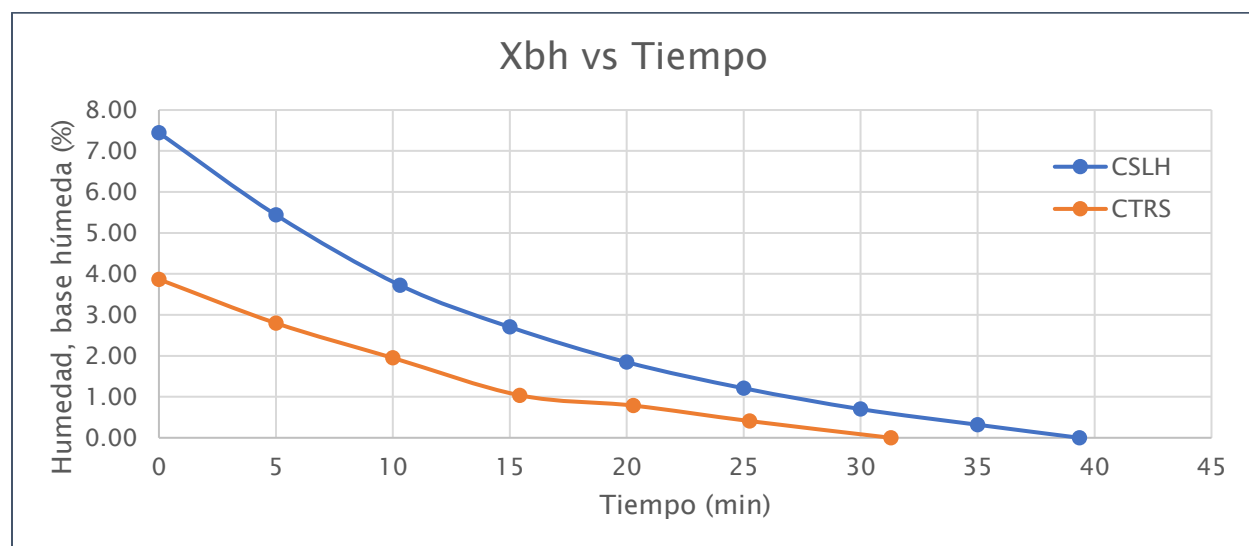
**Tabla 3.1**

*Humedad inicial en muestras CSLH y CTRS, secado en termobalanza*

Parámetro	Unidades	CSLH	CTRS
Peso muestra inicial	G	3,180	3,143
Peso muestra final	G	3.057	2.909
Humedad inicial, base húmeda	% (g agua/g sólido húmedo)	3,868	7,445

**Figura 3.1**

*Curvas de secado*



El límite de humedad máximo permisible para hierbas aromáticas es 12% (INEN, 2017), por lo que las muestras no requieren un tratamiento de secado, la humedad en base húmeda de ambas se encuentra por debajo del límite condensorio.

### 3.1.2. Molienda y análisis granulométrico

La muestra CSLH presentó inconvenientes debido a su consistencia y dureza, ocasionando obstrucciones en las placas de corte y provocando el calentamiento del equipo tras operar por varios minutos. Esto resultó en un tiempo de molienda prolongado, ya que fue necesario regular el esfuerzo del equipo.

**Tabla 3.2**

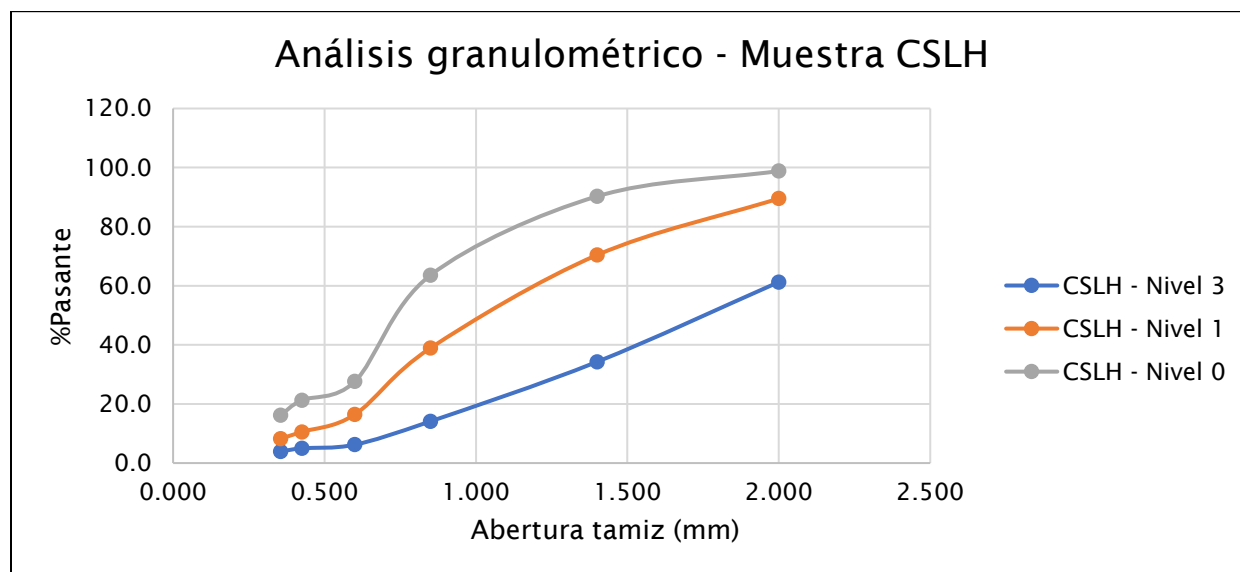
*Masa (g) de muestras CSLH y CTRS retenida en cada tamiz*

No. Tamiz	Abertura (mm)	Muestra CSLH			Muestra CTRS		
		Nivel 3	Nivel 1	Nivel 0	Nivel 3	Nivel 1	Nivel 0
10	2,0	49,4	14,5	3,2	37,3	10,5	1,1
14	1,4	20,6	22,7	11,2	26,0	19,2	8,1
20	0,85	15,0	28,2	22,1	19,4	31,6	25,2
30	0,60	6,8	18,1	24,0	7,6	22,6	34,0
40	0,425	1,2	2,6	4,4	1,2	5,9	6,0
45	0,355	0,8	2,1	3,7	1,0	2,3	4,8
Base	-	2,8	6,2	8,7	3,8	8,3	15,3

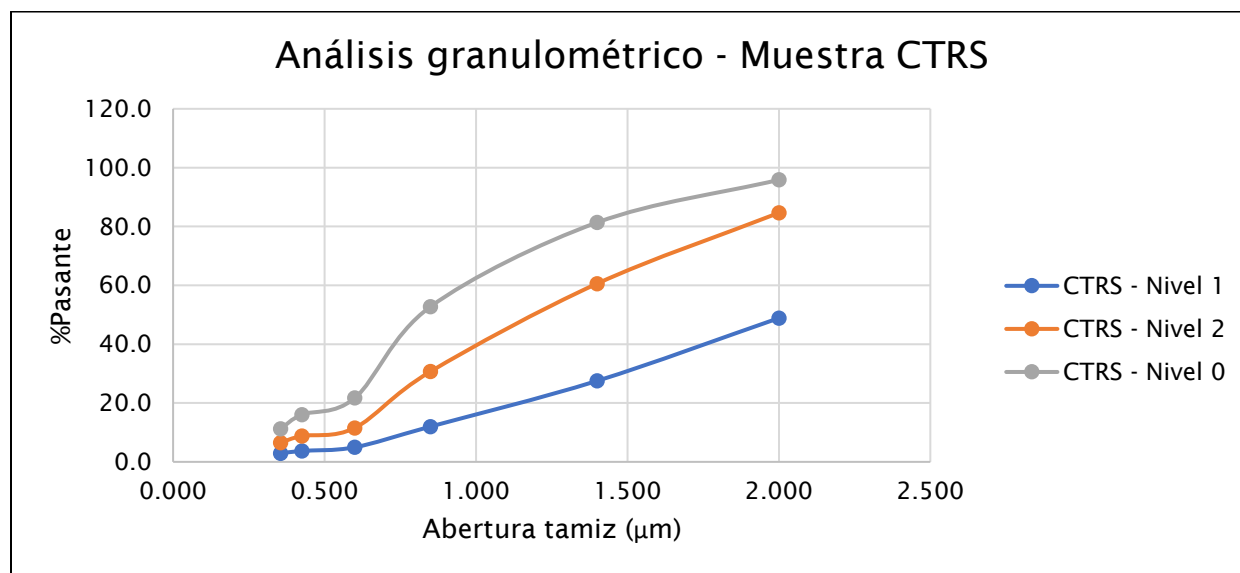
*Nota.* La cantidad de muestra retenida en cada tamiz y base expresada en gramos. El No. Tamiz hace referencia al número de serie de la especificación ASTM E-11 (Tabla 0.3).

**Figura 3.2**

*Análisis granulométrico de muestra CSLH por nivel de molino*

**Figura 3.3**

*Análisis granulométrico de muestra CRTS por nivel de molino*



Para ambas muestras, con el Nivel 3 no se alcanza el 80% de producto pasante en ningún tamaño de abertura del tamiz, este nivel se descartó para procesar las muestras siguientes. Los

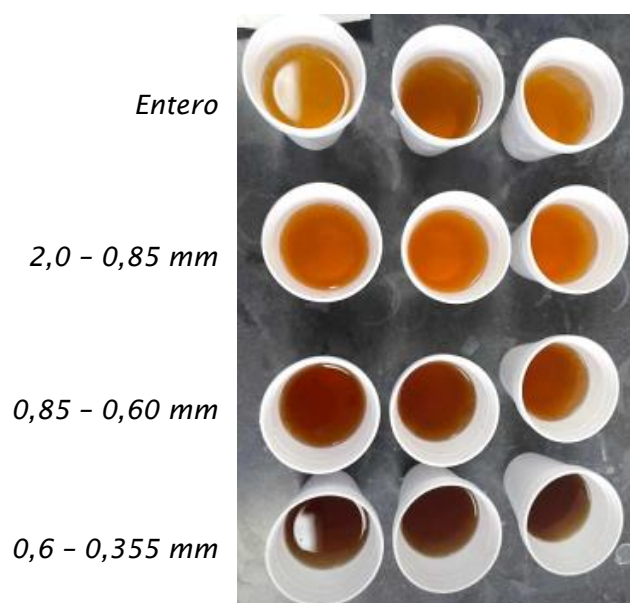
valores D80 para el Nivel 1 son 1.884 (CTRS) y 1.701 (CSLH), para el Nivel 0 son 1.374 (CTRS) y 1.118 (CSLH). Esto nos indica que usando tamices de la serie ASTM-E11 N°10, 14 y 20 tendremos mayor cantidad de muestras retenida acumulada. Sin embargo, teóricamente menores tamaños de partícula favorecen la extracción de bioactivos y considerando que las condiciones de extracción pueden alterar la cinética de difusión, se incluyen tamices de menor abertura para el estudio, a pesar de su reducida retención. Se definieron los tamaños: Entero, 2-0.85 mm, 0.85-0.6 mm y 0.6-0.335 mm.

### 3.2. Extracción

Para ambas muestras se visualizó una misma tendencia en el color de las infusiones, de acuerdo con Padilla F. et al. (2008) la concentración de polifenoles está directamente relacionada con el color de los alimentos, lo cual fue un indicador de que los extractos en la infusión aumentan al disminuir el tamaño de partícula, tal como se observa en la Figura 3.4.

#### Figura 3.4

*Infusiones de la muestra CTRS por lixiviación.*



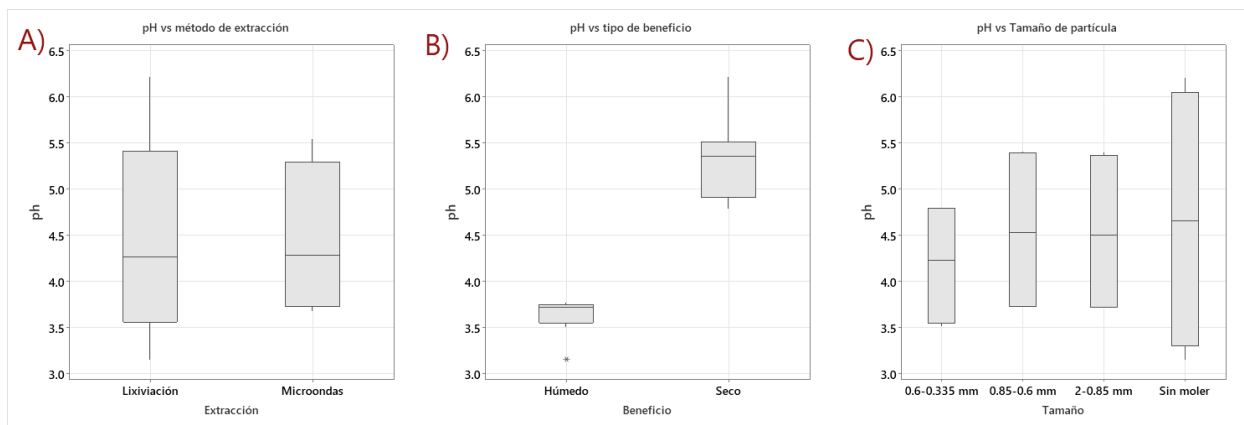
*Nota.* Por cada tamaño se realizaron 3 repeticiones.



### 3.3. pH de extractos

**Figura 3.5**

*Gráfico de cajas de pH de los extractos*

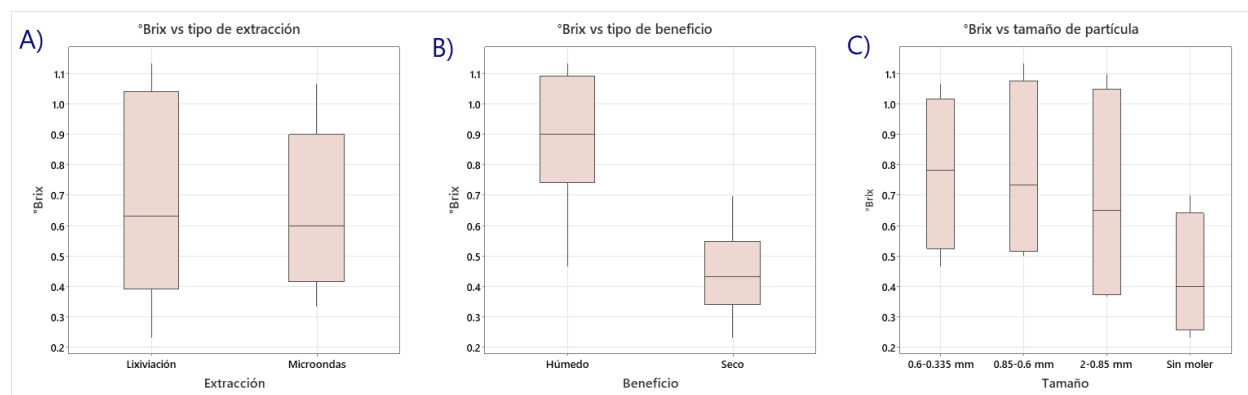


En el gráfico A de la Figura 3.5, se evidenció mayor dispersión en los valores de la extracción por lixiviación, indicando que este proceso no afecta estadísticamente ( $p > 0.05$ ) el pH (Krzywinski & Altman, 2014). En contraste, en el gráfico B se observa que el beneficio húmedo exhibió una dispersión más amplia, con diferencias significativas (agrupación diferente en prueba Tukey) en las medianas de pH respecto al beneficio seco, atribuido a la degradación de compuestos alcalinos durante el secado. Los diversos tamaños de partícula ( $p < 0.05$ ) (Figura 3.5, C) no presentaron valores atípicos en el pH, pero las muestras sin moler mostraron mayor dispersión. La mediana de pH fue menor en partículas más pequeñas, asociada a una mayor extracción de compuestos ácidos orgánicos (Narita & Inouye, 2014), favorecida por el menor tamaño de partícula.

### 3.4. Grados Brix de extractos

**Figura 3.6**

*Grados Brix en extractos*



No se observaron diferencias significativas entre los datos de grados Brix de ambos tipos de extracción ( $p > 0.05$ ), aunque la lixiviación mostró valores ligeramente superiores. Con respecto al tamaño de partícula, las medianas fueron claramente mayores en el rango de 0,6-0,335 mm, con mínimo traslape entre las cajas, indicando diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). Esto se atribuye a que los tamaños más pequeños facilitan la extracción de sólidos solubles (Narita & Inouye, 2014). Durante el procesamiento del café, los compuestos insolubles se degradan y los azúcares se diluyen, afectando los sólidos solubles medidos como grados Brix, que son mayores en el beneficio húmedo (Puerta, 2012). Esto se corrobora con el gráfico B de la Figura 3.6, donde el beneficio húmedo presenta una distribución de grados Brix superior al proceso seco ( $p = 0$ ,  $p < 0.05$ ).

### 3.5. Cuantificación de polifenoles y cafeína en infusiones

Durante el análisis, surgieron inconvenientes, como la falta de datos de una repetición para ciertas muestras. Se excluyó una muestra con datos aberrantes en la elección de las muestras de interés. En la Tabla 3.3 se presenta la concentración de polifenoles para cada variable, que

corresponde al promedio de las repeticiones. La cuantificación de kaempferol se logró en solo dos muestras, mientras que la naringenina no se detectó en ninguna muestra dentro de los límites de cuantificación, posiblemente debido a su susceptibilidad a la degradación térmica.

La cafeína fue un componente predominante en los extractos, con concentraciones entre 5,25 mg y 16,58 mg en 100 ml de infusión, al igual que el ácido clorogénico, oscilando entre 2,564 mg y 10.291 mg en 100 ml de infusión. Estos resultados concuerdan con la proporción de estos compuestos en la cáscara de café (Serag El-Din & Elsayy, 2021). La cafeína, conocida por sus efectos estimulantes, y el ácido clorogénico, con propiedades antiinflamatorias y hepatoprotectoras (Fredholm, 2011; Mills et al., 2013) estacan en las infusiones analizadas.

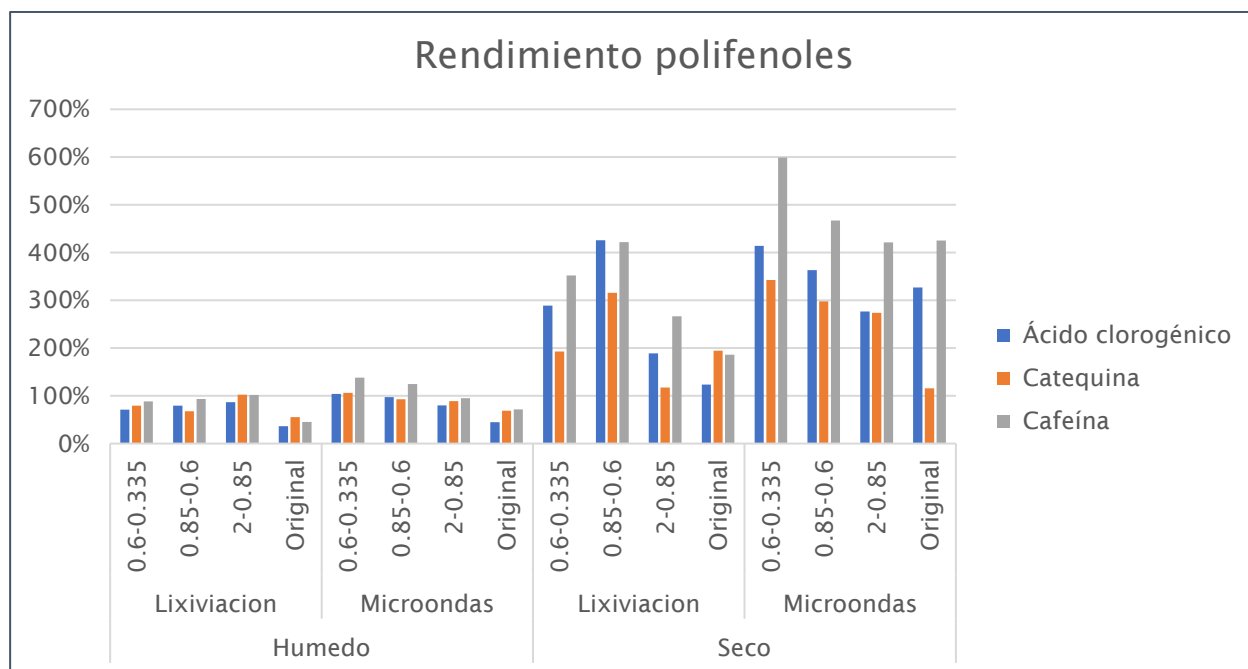
**Tabla 3.3***Concentración de polifenoles en muestras*

Componente	Concentración (mg/100ml)														
	Beneficio seco							Beneficio húmedo							
	Lixiviación			Original	Microondas			Lixiviación			Original	Microondas			Original
	0,6-0,335	0,85-0,6	2-0,85		0,6-0,335	0,85-0,6	2-0,85	0,6-0,335	0,85-0,6	2-0,85		0,6-0,335	0,85-0,6	2-0,85	
Ácido cafeico	0,191	0,224	0,113	0,188	0,302	0,219	0,164	0,238	0,032	0,021	0,022	0,020	0,044	0,034	0,029
Ácido p-coumárico	0,000	0,036	0,000	0,007	0,033	0,035	0,036	0,032	0,031	0,036	0,032	0,023	0,039	0,039	0,031
Ácido clorogénico	6,975	10,291	4,557	2,979	10,007	8,776	6,676	7,894	5,032	5,598	6,129	2,564	7,343	6,898	5,665
Ácido Syringico	0,000	0,070	0,109	0,105	0,303	0,232	0,167	0,110	0,014	0,020	0,074	0,032	0,017	0,081	0,085
Ácido gálico	0,033	0,024	0,026	0,018	0,054	0,044	0,048	0,036	0,100	0,173	0,254	0,163	0,139	0,108	0,094
Rutina	0,064	0,088	0,055	0,050	0,081	0,080	0,094	0,117	0,034	0,033	0,033	0,022	0,044	0,028	0,032
Kaempferol	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,547	0,000	0,000	0,000	0,474	0,000	0,000
Quercetina	0,108	0,133	0,055	0,063	0,160	0,129	0,102	0,100	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Naringenina	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Catequina	0,267	0,437	0,163	0,269	0,474	0,412	0,379	0,160	0,067	0,056	0,086	0,046	0,089	0,078	0,075
Epicatequina	0,000	0,000	0,031	0,000	0,034	0,032	0,000	0,000	0,028	0,046	0,046	0,000	0,050	0,078	0,048
Cafeína	9,746	11,680	7,376	5,151	16,580	12,925	11,661	11,769	6,482	6,861	7,476	3,330	10,127	9,150	6,949

Se evaluó el rendimiento de la extracción del ácido clorogénico, cafeína y catequina (Figura 3.7), comparando los datos con las concentraciones reportadas en la cáscara de café por Freire & Ortiz (2023). Se observó que el rendimiento variaba desde el 45% hasta superar el 100% en la mayoría de los casos. Cabe recalcar que dicho estudio tuvo diferentes condiciones de extracción, baño maría a 60 °C durante una hora, lo que puede propiciar la degradación de compuestos debido a la exposición prolongada a temperaturas elevadas. Además, el tamaño de partícula influyó, mediante molienda y tamizado se aseguró la uniformidad en las partículas, parámetro no considerado en el estudio de comparación. Las muestras tratadas por beneficio seco, extraídas mediante microondas y con menor tamaño de partícula, permitieron obtener mayores concentraciones en los extractos, coincidiendo con lo informado por Taralkar et al. (2016).

**Figura 3.7**

*Rendimiento de la extracción de los principales polifenoles*



### 3.6. Cuantificación de aminoácidos

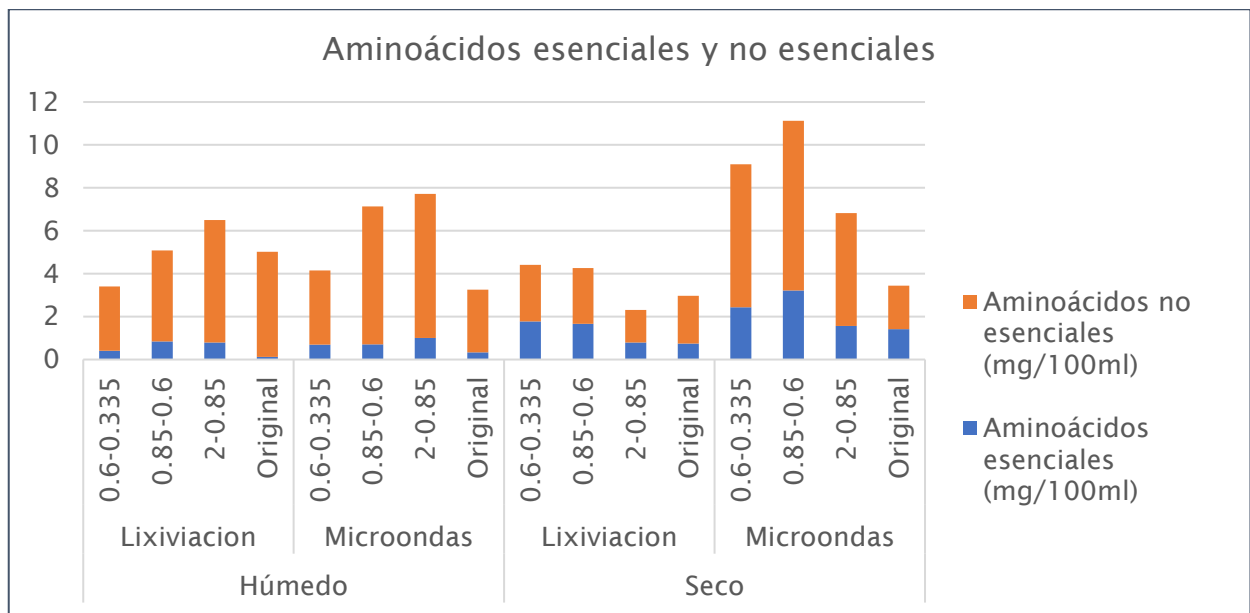
En la determinación de aminoácidos, se realizó la prueba con el fin de obtener varios aminoácidos presentes, pero los aminoácidos cisteína e histidina no fueron detectables dentro del límite de cuantificación designado, así mismo la fenilalanina, isoleucina, leucina lisina, treonina,

triptófano y valina, se encontraban en muy baja concentración en las muestras de beneficio seco, por lo que no fueron detectadas.

Para simplificar los datos, se clasificaron los aminoácidos presentes en esenciales y no esenciales, reportados en la Figura 3.8. Como se observa en el gráfico, el beneficio seco, extracción por microondas y menores tamaños de partícula incrementan la extracción de aminoácidos esenciales y no esenciales, coincidiendo con estudios previos (Narita & Inouye, 2014; Braham & Bressani, 1979).

**Figura 3.8**

*Concentración de aminoácidos en los extractos*



Esto es relevante dado que los aminoácidos desempeñan un rol fundamental como precursores indispensables para la síntesis de una amplia variedad de moléculas de enorme importancia biológica, regulan vías metabólicas cruciales y procesos vitales para la salud, el crecimiento, desarrollo, reproducción y homeostasis de los organismos (Wu, 2009).

### 3.7. Capacidad antioxidante

En la Tabla 3.4 se observa que la capacidad antioxidante aumenta con el beneficio seco, la extracción por microondas y el uso de tamaños de partícula más pequeños. Se incluyó la capacidad antioxidante del té verde para comparación, siendo significativamente mayor debido a su riqueza en compuestos fenólicos antioxidantes, especialmente las catequinas, como la EGCG (Saklar et al., 2015). Aunque la diversa composición de la infusión de cáscara de café contribuye a su capacidad antioxidante, no alcanza la potencia de las catequinas presentes en el té verde.

**Tabla 3.4**

*Capacidad antioxidante*

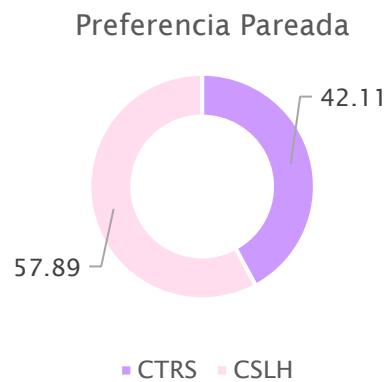
Extracción	Tamaño (mm)	Unidad	Beneficio		Té verde (Muñoz et al., 2012)
			Húmedo	Seco	
Lixiviación	0.6-0.335	umol Trolox/ml	ND	0,0021	4,9000
	0.85-0.6		0,0020	0,0024	
	2-0.85		0,0018	0,0015	
	Original		0,0012	0,0010	
Microondas	0.6-0.335	umol Trolox/ml	ND	0,0023	
	0.85-0.6		0,0023	0,0023	
	2-0.85		0,0023	0,0022	
	Original		0,0015	0,0018	

### 3.8. Resultados de las pruebas sensoriales

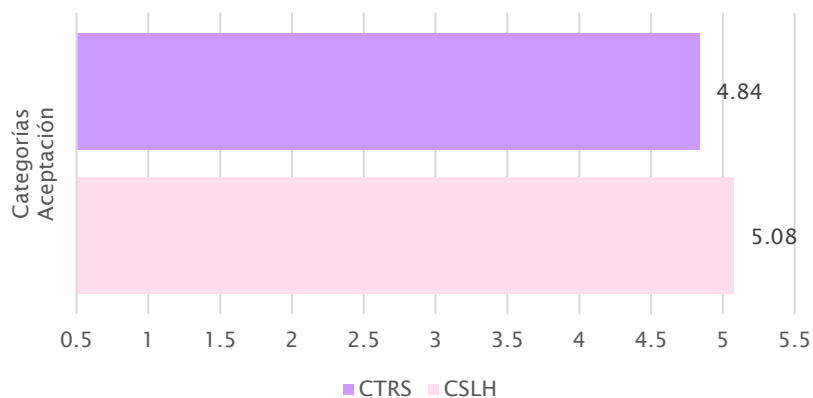
En el panel 1 y 2, la muestra CSLH tuvo mayor aceptación general con el grano entero y tamaño 2–0.85 mm respectivamente. A fin de obtener un mejor análisis estadístico se seleccionó CSLH entera y CTRS 2–0.85 mm para el panel 3.

#### 3.8.1. Análisis de prueba de Preferencia Pareada y aceptación general

Descriptivamente se estimó que aproximadamente el 58.98% del jurado prefirió la muestra CSLH, mientras que el 42.11% la muestra CTRS. No obstante, solo 22 de los 38 jurados expresan preferencia por una muestra, lo cual no cumple el mínimo requerido (26/38) para un valor significativo de preferencia.

**Figura 3.9***Preferencia Pareada entre muestras CSLH y CTRS*

En la aceptación general tampoco hubo diferencias significativas entre CTRS y CSLH. Las medias fueron muy similares y las pruebas estadísticas ANOVA, Tukey y los intervalos de confianza simultáneos corroboraron que el nivel de aceptación es estadísticamente igual.

**Figura 3.10***Aceptación General entre muestras CTRS y CSLH*

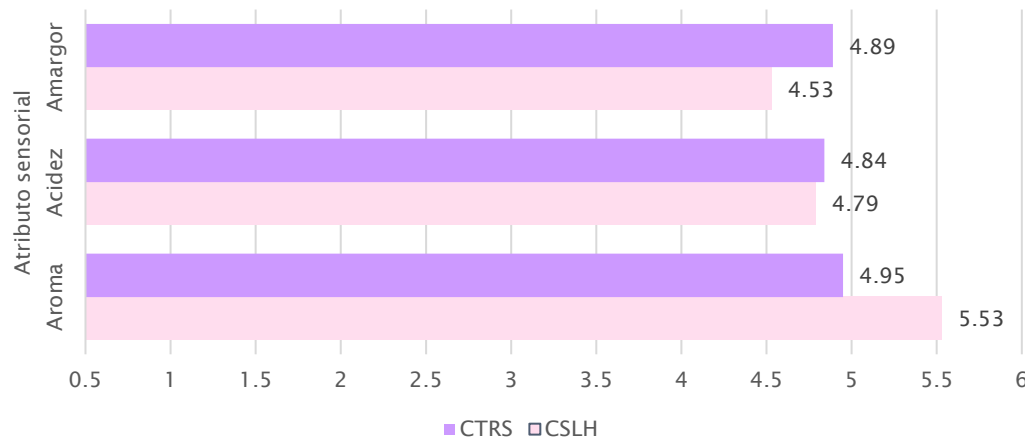
### 3.8.2. Evaluación de atributos sensoriales

Mediante la prueba de Tukey se pudo afirmar que estadísticamente el nivel de aceptación del aroma de la muestra CTRS y CSLH fue diferente. Entre ambas muestras no existen condiciones de igualdad de aceptación en cuanto al aroma, siendo la muestra CSLH aquella con mayor aceptación. Por otro lado, en cuanto a acidez y amargor el nivel de aceptación entre ambas muestras fue estadísticamente igual.



**Figura 3.11**

*Distribución de datos en aceptación de atributos sensoriales entre muestras CTRS y CSLH*



La única diferencia significativa fue la mayor aceptación del aroma de la muestra CSLH. Sin embargo, las pruebas de correlación de Pearson y modelos de regresión lineal indican que no hay relación directa entre el aroma y la aceptación general de cada muestra, ambas muestras son equivalentes desde el punto de vista sensorial.

La cantidad y relaciones de compuestos volátiles como azúcares, compuestos fenólicos, ácido clorogénicos y cafeína, en las infusiones radican en los atributos sensoriales. La baja intensidad y diferenciabilidad entre el aroma de las muestras se debe al bajo contenido de azúcares (indicador °Brix), combinado con un alto contenido de ácido clorogénico (Good Kitzberger et al., 2020), esta relación se potencia más en la muestra CTRS cuya media de grados Brix fue menor, y con mayor contenido de ácido clorogénico en promedio, por ello resultó la menos favorecida en la aceptación de aroma. Además, se considera que se aplicó únicamente lixiviación para la extracción.

### 3.9. Análisis estadístico

Para las pruebas estadísticas se presupuso igualdad de varianza con un nivel de confianza de 95% ( $\alpha=0.05$ ). Los coeficientes de correlación de Pearson entre las variables se presentan en la Figura 3.12. Se destacó una fuerte correlación positiva ( $r=0.93$ ,  $p<0.05$ ) entre el tipo de beneficio y el pH, indicando que el beneficio húmedo se asociaba con pH más bajo, mientras que el beneficio

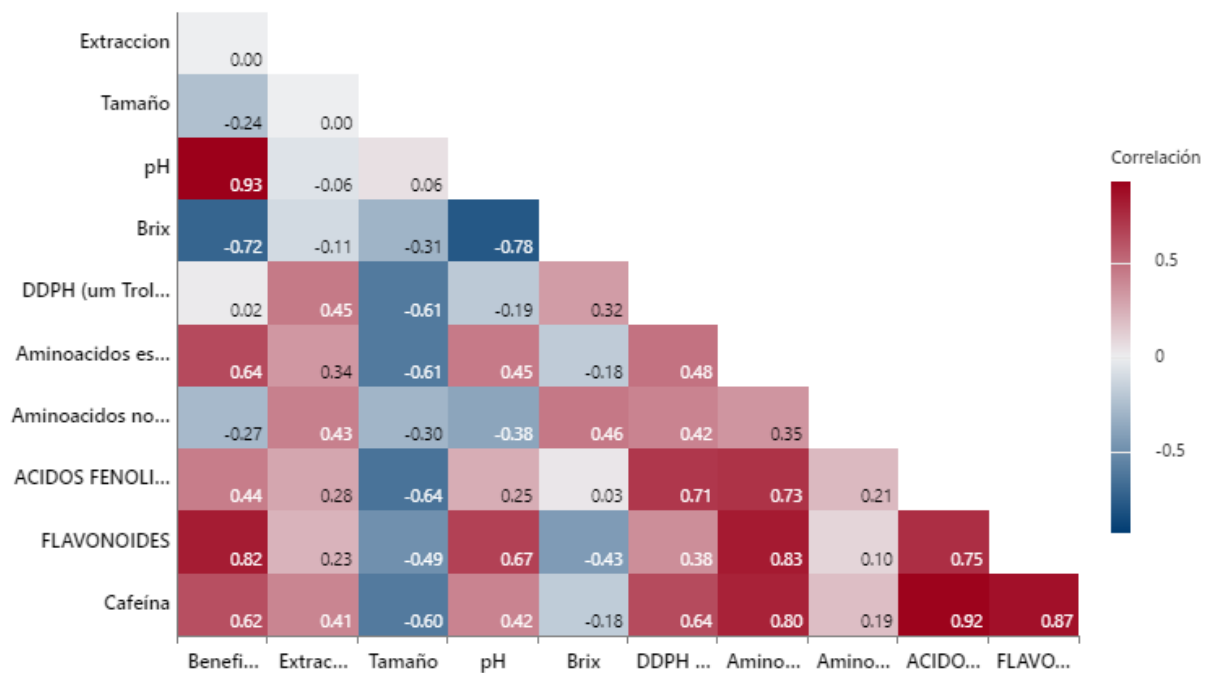
seco se relacionaba con pH más alto. La relación de las variables independientes con grados Brix era inversa, y se identificó una correlación moderada directa ( $p < 0.05$ ) entre el beneficio húmedo y la concentración de flavonoides.

Se confirmó la influencia indirecta del tamaño de partícula en la capacidad antioxidante, aminoácidos esenciales, ácidos fenólicos y cafeína. La extracción, por su parte, mostró una influencia limitada, con coeficientes de correlación cercanos a 0 en la mayoría de las variables ( $p > 0.05$ )

La capacidad antioxidante (DPPH) se correlacionó directamente con ácidos fenólicos y cafeína.

### Figura 3.12

*Mapa de calor de las correlaciones entre variables*



La prueba MANOVA (Anexo 1) reveló que el tamaño de partícula y el método de beneficio impactaron significativamente en las variables pH, Brix, DPPH, ácidos fenólicos, flavonoides y cafeína ( $p < 0.05$ ). El beneficio húmedo tendió a resultar en pH más alto y valores de Brix más bajos. La técnica de extracción no presenta significancia estadística ( $p > 0.05$ ), aunque se evidenció

que la extracción con microondas producía resultados más altos en DPPH, ácidos fenólicos, flavonoides y cafeína en comparación con la lixiviación.

Sin embargo, las gráficas de residuos señalaron posibles desviaciones de los supuestos del modelo, especialmente para aminoácidos esenciales y cafeína, indicando la necesidad de un análisis más detenido en estas variables.

### 3.10. Selección de muestras

A partir de la información obtenida sobre polifenoles, aminoácidos y las pruebas sensoriales, se decidió que las muestras que podrían llegar a usarse como materia prima del producto corresponde a la muestra con beneficio húmedo (CTRS) y seco (CSLH), tamaño 0,85-0,6mm, por lo que se les realizó análisis fisicoquímicos y microbiológicos requeridos por la norma INEN 2392:2017.

### 3.11. Validación con referencia norma INEN

**Tabla 3.5**

*Validación requisitos fisicoquímicos y microbiológicos.*

Requisitos	Unidad	CTRS	CSLH	Límite de aceptación
<i>Fisicoquímicos</i>				
Humedad <sup>a</sup>	% m/m	7.45	3.87	12
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico <sup>a</sup>	% m/m base seca	0.63	2.58	3.5
<i>Microbiológicos</i>				
<i>Escherichia Coli</i> <sup>a</sup>	UFC/g	<10	<10	1 x 10 <sup>2</sup>
<i>Mohos y levaduras</i> <sup>b</sup>	UFC/g	4.3 x 10 <sup>2</sup>	<10	1 x 10 <sup>2</sup>
<i>Bacillus cereus</i> <sup>a</sup>	UFC/g	<10	<10	1 x 10 <sup>4</sup>
<i>Clostridium perfringens</i> <sup>a</sup>	UFC/g	1 x10 <sup>2</sup>	<10	1 x 10 <sup>3</sup>

*Nota.* a: Se consideraron los Requisitos de la noma INEN 2392 para Hierbas Aromáticas(INEN, 2017). b: Se usó como referencia la noma INEN 1123 Café tostado y molido (Mohos y levaduras)(INEN, 2016).

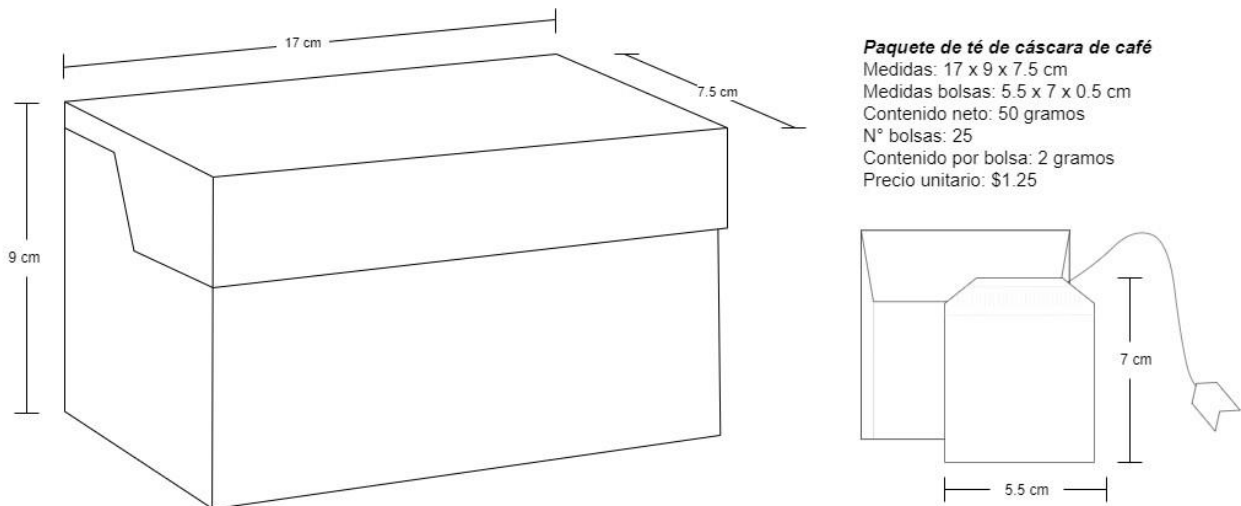
Las muestras se encuentran dentro de los límites condinatorios, a excepción del contenido de mohos y levaduras de la muestra CTRS, esta proliferación se da durante el prolongado tiempo de secado propio del beneficio seco y las condiciones de temperatura e higiene durante la

fermentación. A pesar de no ser un requisito para hierbas aromáticas, se deben considerar ajustes para procesar esta muestra como alimento, o bien implementar un sistema de pretratamiento a la cáscara.

### 3.12. Diseño de producto

**Figura 3.13**

*Presentación de producto*



### 3.13. Estudio económico

#### 3.13.1. Población y Demanda

La población corresponde a residentes ecuatorianos – 16,9 millones de personas (INEC, 2023), el mercado abarca a consumidores regulares de té en Ecuador; sin embargo, para cálculos de rentabilidad en el primer año se considera una captura inicial del mercado del 5%, pues se trata de un producto que entra a un mercado ya existente y competitivo.

#### 3.13.2. Activos

**Tabla 3.6**

*Equipos de planta*

Equipo	Detalle	Cantidad	P. Unitario	P. Pagar
Molino de café	Molino de café MRI-300	1	\$ 2,889.00	\$ 3,589.68
Tamizadora	EVERSUN Industrial Tamizadora	1	\$ 4,064.70	\$ 3,235.68
Empacadora	Chinapack SP-A600 envasadora de té	1	\$ 3,650.00	\$ 4,552.46

Banda Transportadora para frutas y verduras, ESBET	2	\$ 3,000.00	\$ 6,360.00
<i>TOTAL EQUIPOS</i>			\$ 18,893.14

Los equipos tienen vida útil de 10 años, la depreciación anual de la planta es \$1,889.31. Activos diferidos influyen Gastos de Constitución y Adecuación, de Funcionamiento, y de Adecuación de planta, detalle en Anexo 2.

### 3.13.3. Ingresos

En 2023, la producción de café en Ecuador fue de 421,248.80 sacos de 60 kg. Considerando una relación de 5:2 para el grano y la cáscara de café generada, se obtienen 10,1 millones de kg de cáscara en la producción nacional. Se estimó la capacidad de adquisición de materia prima: 667,258 kg de cáscara anuales. Se estableció 36% de eficiencia del proceso de producción.

**Tabla 3.7**

#### *Ingresos*

<b>Unidades producidas, anual</b>	4,804,258.31
<b>Valor unitario, paquete de bolsas de té</b>	\$1.25
<b>Ingreso anual</b>	\$6,005,322.89
<b>Incremento anual</b>	%2.56

### 3.13.4. Costos fijos y variables

**Tabla 3.8**

#### *Costos fijos*

	<b>Mensual</b>	<b>Anual</b>
Servicios de internet	\$50.00	\$600.00
Servicios básicos: agua y energía eléctrica	\$750.00	\$9000.00
Sueldos, mano de obra indirecta	\$2,556.45	\$36,247.40
Gerente General (1)	\$1,200.00	\$19,465.60
Asistente Administrativo (2)	\$1,222.65	\$16,781.80
Impuestos	\$729.81	\$8,757.76
<i>TOTAL COSTOS FIJOS</i>		\$36,247.40

**Tabla 3.9***Costos Variables*

	<b>Mensual</b>	<b>Anual</b>
Sueldo, mano de obra directa	\$1,533.87	\$60,049.32
Operadores en planta (3)	\$1,533.87	\$60,049.32
Materia prima, saco cáscara de café	\$278,024.21	\$3,336,290.50
Etiquetas/Empaque	\$20,017.74	\$240,212.92
Bolsas de té	\$192,170.33	\$2,306,043.99
	<i>TOTAL COSTOS FIJOS</i>	\$5,942,597.72

**3.13.5. Flujo de caja****Tabla 3.10***Flujo de Caja*

DETALLE	0	1	2	3	4	5
<b>Ventas</b>		\$6,005,322.89	\$6,159,059.16	\$6,316,731.07	\$6,478,439.39	6,644,287.44
Costos variables		\$5,942,596.72	\$6,094,727.20	\$6,250,752.21	\$6,410,771.47	6,574,887.22
<b>Margen de contribución</b>		\$62,726.17	\$64,331.96	\$65,978.86	\$67,667.92	\$69,400.22
Costos fijos		\$54,005.16	\$54,005.16	\$54,005.16	\$54,005.16	\$54,005.16
Depreciación		\$1,889.31	\$1,889.31	\$1,889.31	\$1,889.31	\$1,889.31
<b>Utilidad operativa</b>		\$6,831.69	\$8,437.48	\$10,084.38	\$11,773.44	\$13,505.74
Gastos financieros (intereses)		\$2,038.00	\$1,830.33	\$1,643.82	\$1,476.31	\$1,325.88
<b>Utilidad antes de participación 15% trabajadores</b>		\$4,793.69	\$6,607.16	\$8,440.56	\$10,297.13	\$12,179.86
<b>Utilidad antes de impuestos 25% impuestos</b>		\$ 719.05	\$ 991.07	\$1,266.08	\$1,544.57	\$1,826.98
<b>Utilidad neta</b>		\$4,074.64	\$5,616.08	\$7,174.48	\$8,752.56	\$10,352.88
Depreciación		\$1,018.66	\$1,404.02	\$1,793.62	\$2,188.14	\$2,588.22
		\$3,055.98	\$4,212.06	\$5,380.86	\$6,564.42	\$7,764.66
Depreciación		\$1,889.31	\$1,889.31	\$1,889.31	\$1,889.31	\$1,889.31
Inversión	(\$21,293.14)					
Capital de trabajo	(\$20,000.00)					
Préstamo	\$20,000.00					
<b>FLUJO DE CAJA NETO</b>	\$ (21,293.14)	\$4,945.29	\$6,101.38	\$7,270.17	\$8,453.73	\$ 9,653.98
<b>TMAR</b>	29.20%					
<b>TIR</b>	18.52%					

La tasa mínima aceptable de rendimiento (TMAR) es 29.20% presenta una rentabilidad razonable para inversionistas, la tasa interna de retorno (TIR) es 18.52%, es decir que la inversión inicial rendirá una tasa de interés del 18% durante el tiempo de operación de la planta. Estos indicadores reflejan la rentabilidad del proyecto.

## Capítulo 4



## 4.1 Conclusiones y recomendaciones

### 4.1.1. Conclusiones

Se logró exitosamente el desarrollo de una novedosa infusión aromática a base de cáscara de café, evaluando en profundidad diversos parámetros físicos, químicos y bioactivos con el fin de generar un producto de calidad superior y alto valor agregado a partir de este residuo agroindustrial.

A partir de la molienda de la materia prima a diferentes niveles del molino y tamizado, se logró realizar el análisis granulométrico, se generaron las respectivas curvas para determinar el parámetro D80. El tamaño de abertura del tamiz requerido para pasar el 80% en peso de la población de partículas está entre 1.1 y 1.8 mm, lo cual implicó más sesiones de molienda para abarcar los tamaños de partículas menores seleccionados. Los 4 tamaños evaluados fueron: Entero (sin moler), 2-0.85 mm, 0.85-0.6 mm, 0.6-0.335 mm.

Mediante el empleo de diferentes métodos extractivos: lixiviación y microondas, se identificaron y cuantificaron satisfactoriamente metabolitos de interés nutricional como cafeína, ácidos clorogénicos y diversos aminoácidos en las infusiones elaboradas, mediante cromatografía líquida. Se comprobó que el uso de cáscara sometida a beneficio seco y la aplicación del microondas como técnica de extracción permiten maximizar el contenido de estos nutrientes funcionales. Además, se estableció que el rango entre 0.6-0.335 mm facilita la extracción y liberación de los compuestos bioactivos presentes en la cáscara de café, entre estos compuestos se destaca la concentración de cafeína y ácido clorogénico, siendo estos 16.28 y 7.33 mg/100 ml respectivamente. Los análisis de capacidad antioxidante total revelaron resultados prometedores, con valores de actividad atrapadora de radicales libres entre 0.0015 y 0.0024  $\mu\text{mol Trolox}/100 \text{ g}$ .

A pesar de que se obtuvo una mejor extracción al disminuir el tamaño de partícula, el estudio sensorial, permitió reconocer que al aumentar la concentración de los componentes existe cierta aversión por la infusión debido a que el sabor amargo y astringente se intensifica. Por ello

se seleccionó el tamaño de partícula 0.85-0.6 mm para el producto final, cuya infusión presentó una concentración de cafeína de 12.92 mg/100ml y de ácido clorogénico de 7.16 mg/100ml.

Finalmente, los ensayos fisicoquímicos y microbiológicos aplicados corroboraron el cumplimiento de requisitos fisicoquímicos y microbiológicos establecidos en la norma INEN 2392 para infusiones de hierbas y frutas; sin embargo, deben considerarse el contenido de mohos y levaduras de la muestra CTRS y si su presencia promueve la formación de toxinas producidas por hongos, para asegurar su inocuidad y considerarse su comercialización.

En conclusión, este estudio permitió generar una innovadora infusión nutritiva y saludable a partir de un residuo agroindustrial, diversificando la cadena de valor del café ecuatoriano mediante la revalorización sustentable de la cáscara y su conversión en un ingrediente funcional.

#### **4.1.2. Recomendaciones**

- La muestra seleccionada tiene un tamaño de partícula entre 0.85 y 0.6 mm, para el cual se requiere un tamiz menor al D80 calculado, resultando en un proceso poco eficiente que ocupa gran cantidad de materia prima, se puede dimensionar un molino industrial que permita la obtención de tamaño de partícula deseado.
- Estudiar la cinética de difusión de la cáscara de café en un medio acuoso a través de bolsas de diferente material, para así descartar su posible interferencia en la extracción de compuestos bioactivos. Analizar la difusión en materiales de diferente porosidad provee lineamientos para un diseño de producto más meticuloso.
- Se recomienda analizar la influencia del tiempo y temperatura de extracción en la composición de bioactivos en extractos, para determinar condiciones óptimas que maximicen la calidad de los extractos.
- Los recursos de materia prima fueron limitados para este estudio, el beneficio del café es una variable del proceso que influye significativamente en la composición de los

extractos, se recomienda abarcar mayor cantidad de muestras de beneficio húmedo y seco, con condiciones controladas para ambos procesos. Analizar las condiciones de fermentación en la composición de las cáscaras permite identificar especies y variedades de café cuyos desechos tendrán mejor rendimiento.

- Diseñar el flujo de proceso desde la cosecha de la cereza de café hasta su transformación en el producto final a base de cáscara, dirigido a pequeños productores que actualmente no tienen sistemas de recolección de desechos. El proceso debe abarcar condiciones óptimas de secado y tiempo de fermentación, al ser una propuesta para un proceso de producción de alimentos se recomiendan controles de calidad microbiológicos adicionales a la humedad y contenido de agua.

## Referencias

- Aguirre Ilich, Andrade Carlos, & Segovia Santiago. (2023). *INFORME DE RESULTADOS DE COMERCIO EXTERIOR Primer trimestre de 2023*. www.bce.ec
- Arpi, N., Muzaifa, M., Sulaiman, M. I., Andini, R., & Kesuma, S. I. (2021). Chemical Characteristics of Cascara, Coffee Cherry Tea, Made of Various Coffee Pulp Treatments. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 709(1), 012030. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/709/1/012030>
- Bassi, P., Kumar, V., Kumar, S., Kaur, S., Gat, Y., & Majid, I. (2020a). Importance and prior considerations for development and utilization of tea bags: A critical review. *Journal of Food Process Engineering*, 43(1). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13069>
- Bassi, P., Kumar, V., Kumar, S., Kaur, S., Gat, Y., & Majid, I. (2020b). Importance and prior considerations for development and utilization of tea bags: A critical review. In *Journal of Food Process Engineering* (Vol. 43, Issue 1). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13069>
- Benavides, P., & De la cruz, L. (2021). *Evaluación de actividad antioxidante en el proceso de tostado de café Coffea Arabica L en las variedades Castillo, Caturra Amarillo y SL-28*.
- Brabender GmbH & Co. KG. (2010). *Break Mill SM 3: Laboratory mill to prepare samples for the moisture determination*. www.brabender.com
- Braham, J., & Bressani, R. (1979). *Coffee pulp : composition, technology, and utilization*. International Development Research Centre.
- Castillo, M. D., Ibáñez, E., Amigo-Benavent, M., Herrero, M., Plaza, M., & Ullate, M. (2013). *Application of products of coffee silverskin in anti-ageing cosmetics and functional food* (Patent WO2013/004873). <http://hdl.handle.net/10261/92745>
- Chango, M., & García, J. (2021). Analysis of the competitiveness of coffee exports from Ecuador versus Colombia and Brazil to the U.S market. *X-Pedientes Económicos*, 5, 65–80.
- Cortés, Y. F., Rodríguez, K. D. S., & Marín, L. A. V. (2020). Environmental impacts from coffee production and to the sustainable use of the waste generated. *Produccion y Limpia*, 15(1), 93–110. <https://doi.org/10.22507/PML.V15N1A7>
- Del Castillo, M. D., Iriondo, A., & Iriondo, M. (2020). Applications of compounds from coffee processing by-products. In *Biomolecules* (Vol. 10, Issue 9, pp. 1–20). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biom10091219>
- Farakte, R. A., Yadav, G., Joshi, B., Patwadhan, A. W., & Singh, G. (2016). Role of Particle Size in Tea Infusion Process. *International Journal of Food Engineering*, 12(1), 1–16. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2015-0213>
- Figueroa, E., Pérez, F., & Godínez, L. (2011). *La producción y el consumo del café* (ECORFAN- Spain, Ed.; 2011th ed.). www.ecorfan.org/spain

- Fredholm, B. (2011). Notes on the history of caffeine use. In *Handbook of Experimental Pharmacology* (Vol. 200, pp. 8–9). [https://doi.org/10.1007/978-3-642-13443-2\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-13443-2_4)
- Freire, M. C., & Ortiz, M. A. (2023). *Propuesta de una bebida funcional basada en la Cuantificación de Polifenoles y Cafeína a partir del aprovechamiento de cáscaras deshidratadas de café.*
- Grajales, T. (2000). *Tipos de investigación.*
- Gustavo A. Jiménez, Bernard Kilian, & Luis Rivera. (2012). Sostenibilidad en el Negocio del Café: COOPEDOTA y el Camino hacia la Carbono Neutralidad. *FOMIN-Coopedota RL*, 3–45.
- Gutiérrez, H., & de la Vara, R. (2008). *Análisis y diseño de experimentos.* [www.FreeLibros.org](http://www.FreeLibros.org)
- Heeger, A., Kosińska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E., & Andlauer, W. (2017). Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*, 221, 969–975. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.067>
- Heredia, B. (2011). *Guía técnica para el cultivo del café.*
- Hernández-Sampieri, R., & Mendoza, C. (2018). Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. *Editorial Mc Graw Hill Education.*
- INEN. (2016). *NTE INEN 1123. Café Tostado en Grano o Molino. Requisitos.*
- INEN. (2017). *NTE INEN 2392. Hierbas Aromáticas. Requisitos.* [www.normalizacion.gob.ec](http://www.normalizacion.gob.ec)
- INIAP. (1993). *MANUAL DEL CULTIVO DEL CAFE.*
- International Coffee Organization. (2023). *Coffee Report and Outlook.*
- Jha, D. K., Dhekne, P. P., & Patwardhan, A. W. (2020). Characterization and evaluation of tea bag papers. *Journal of Food Science and Technology*, 57(8), 3060–3070. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04339-z>
- Kern & Sohn GmbH. (2013). *Determinador electrónico de humedad KERN MLSC.* [www.kern-sohn.com](http://www.kern-sohn.com)
- Krzywinski, M., & Altman, N. (2014). Visualizing samples with box plots. *Nature Methods*, 11(2), 119–120. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2813>
- Lobos, R. L. (2019). *Optimización de los parámetros de extracción discontinua sólido-líquido de los antioxidantes de las hojas de Anona (Annona x atemoya Mabb.).*
- LRQA. (2009). *NORMA TÉCNICA ISO/ TS 22002-1: 2009.*
- Mantilla, D. J. (2019). *Optimización del proceso conocido como “Beneficio húmedo y seco” en la industria del café.*
- Mills, C. E., Oruna-Concha, M. J., Mottram, D. S., Gibson, G. R., & Spencer, J. P. E. (2013). The effect of processing on chlorogenic acid content of commercially available coffee. *Food Chemistry*, 141(4), 3335–3340. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.014>

- Muñoz, E., Rivas, K., Loarca, F., Mendoza, S., Reynoso, R., & Ramos, M. (2012). Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. In *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* (Vol. 3).
- Murthy, P. S., & Madhava Naidu, M. (2012). Sustainable management of coffee industry by-products and value addition - A review. In *Resources, Conservation and Recycling* (Vol. 66, pp. 45–58). <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005>
- Murthy, P. S., & Naidu, M. M. (2012). Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3), 897–903. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0363-z>
- Narita, Y., & Inouye, K. (2014). Review on utilization and composition of coffee silverskin. In *Food Research International* (Vol. 61, pp. 16–22). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.023>
- Noriega Salazar, A., Silva Acuña, R., & García de Salcedo, M. (2008). Revisión: Utilización de la pulpa de café en la alimentación animal. *Zootecnia Tropical*, 26(4).
- Padilla F., Rincón A., & Bou-Rached L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 58.
- Puerta Quintero, G. I. (2012). Factores, Procesos y Controles en la Fermentación del Café. *Avances Técnicos CENICAFÉ*.
- Ramos, E. (2023, April 4). Perú exporta sus primeras 6 toneladas de cáscara de café orgánico a Alemania. . *Agencia Agraria de Noticias*. <https://agraria.pe/noticias/peru-exporta-sus-primeras-6-toneladas-de-cascara-de-cafe-org-31373>
- Ruiz, R. E., Medina, J. A., Carmona, J., Rincón, G., Sánchez, J. M., & Raj Aryal, D. (2021). Effect of the disposal of coffee wet milling residues on the physical and chemical characteristics of natural flowing water. *Terra Latinoamericana*, 39. <https://doi.org/10.28940/TERRA.V39I0.884>
- Saklar, S., Ertas, E., Ozdemir, I. S., & Karadeniz, B. (2015). Effects of different brewing conditions on catechin content and sensory acceptance in Turkish green tea infusions. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6639–6646. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1746-y>
- Saval, S. (2012). Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *Revista de La Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería A.C.* 16(2), 16(2), 14–46. [https://smbb.mx/wp-content/uploads/2017/10/Revista\\_2012\\_V16\\_n2.pdf](https://smbb.mx/wp-content/uploads/2017/10/Revista_2012_V16_n2.pdf)
- Serag El-Din, M., & Elsayy, H. (2021). *Utilization of Coffee Husks to Prepare Functional Products* (Vol. 8, Issue 1).
- Silva, M. de O., Honfoga, J. N. B., Medeiros, L. L. de, Madruga, M. S., & Bezerra, T. K. A. (2020). Obtaining Bioactive Compounds from the Coffee Husk (*Coffea arabica* L.) Using Different Extraction Methods. *Molecules*, 26(1), 46. <https://doi.org/10.3390/molecules26010046>
- SIPA. (2023). *Comercio Exterior de los Principales Productos Agropecuarios*.

- Sorane Good Kitzberger, C., Pot, D., Marraccini, P., Filipe Protasio Pereira, L., & Brígida dos Santos Scholz, M. (2020). Flavor precursors and sensory attributes of coffee submitted to different post-harvest processing. *AIMS Agriculture and Food*, 5(4), 700–714. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2020.4.700>
- Suárez Albarracín, L. D. (2018). *APROVECHAMIENTO AGROINDUSTRIAL DE LA PULPA Y CASCARILLA DEL CAFÉ (Coffea arábica) VARIEDAD CATURRA EN EL NOROCCIDENTE DE PICHINCHA*. Universidad de Las Américas.
- Taralkar, S. V, Chattopadhyay, S., & Gaikar, V. G. (2016). Parametric optimization and modeling of batch extraction process for extraction of betulinic acid from leaves of Vitex Negundo Linn. *Separation Science and Technology*, 51(4), 641–652. <https://doi.org/10.1080/01496395.2015.1105822>
- Torres-Valenzuela, L. S., Martínez, K. G., Serna-Jimenez, J. A., & Hernández, M. C. (2019). Drying of coffee pulp: Process parameters, mathematical model and its effect over physicochemical properties. *Informacion Tecnologica*, 30(2), 189–200. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000200189>
- Wu, G. (2009). Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. In *Amino Acids* (Vol. 37, Issue 1, p. 13). <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0269-0>
- Yepes, W. U., & Godoy, M. J. (2021). Review - Use of residues from the coffee agro-industry in the manufacture of polymer matrix composite materials. *Prospectiva*, 4. <https://doi.org/10.15665/rp.v19i2.2590>
- Yong, L., Jian, L., Xian, L., & Bei, W. (2021). Test and analysis of the porosity of cotton fiber assembly. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 16, 155892502110242. <https://doi.org/10.1177/15589250211024225>
- Zapata, O. (2018). *Caracterización morfológica, productiva y sanitaria de variedades de café arábigo (coffea Arábica) de alta producción y resistencia a roya Anaranjada en la zona de caluma*.

## Anexo 1

**Modelo lineal general: pH, Brix, DPPH (um Trolox/ml), Aminoacidos esenciales (mg/100m, Aminoacidos no esenciales (mg/1, ACIDOS FENOLICOS, FLAVONOIDES, Cafeína vs. Tamaño, Beneficio, Extraccion**

### Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tamaño	Fijo	4	0,6-0,335, 0,85-0,6, 2-0,85, Original
Beneficio	Fijo	2	Humedo, Seco
Extraccion	Fijo	2	Lixiviación, Microondas

### Análisis de varianza para pH, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tamaño	3	0.5566	2.1388	0.7129	30.62	0.000
Beneficio	1	18.8860	18.8860	18.8860	811.06	0.000
Extraccion	1	0.0710	0.0710	0.0710	3.05	0.095
Error	22	0.5123	0.5123	0.0233		
Total	27	20.0259				

### Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)
0.152596	97.44%	96.86%

### Observaciones inusuales de pH

Obs	pH	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
13	6.1300	5.7837	0.0686	0.3463	2.54 R
14	6.1100	5.7837	0.0686	0.3263	2.39 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

### Análisis de varianza para Brix, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tamaño	3	0.59054	0.70333	0.23444	9.61	0.000
Beneficio	1	1.45042	1.45042	1.45042	59.43	0.000
Extraccion	1	0.02893	0.02893	0.02893	1.19	0.288
Error	22	0.53690	0.53690	0.02440		
Total	27	2.60679				

### Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)
0.156220	79.40%	74.72%

### Observaciones inusuales de Brix

Obs	Brix	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
4	1.3000	0.9655	0.0703	0.3345	2.40 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.



### Análisis de varianza para DPPH (um Trolox/ml), utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tamaño	3	0.000003	0.000003	0.000001	9.71	0.000
Beneficio	1	0.000000	0.000000	0.000000	0.23	0.633
Extraccion	1	0.000001	0.000001	0.000001	13.31	0.001
Error	22	0.000002	0.000002	0.000000		
Total	27	0.000007				

#### Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)
0.0003241	65.87%	58.11%

#### Observaciones inusuales de DPPH (um Trolox/ml)

Obs	DPPH (um Trolox/ml)	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
21	0.002383	0.001651	0.000146	0.000732	2.53 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

### Análisis de varianza para Aminoacidos esenciales (mg/100m, utilizando SC ajustada para pruebas)

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tamaño	3	7.148	4.559	1.5196	7.27	0.001
Beneficio	1	5.236	5.236	5.2360	25.04	0.000
Extraccion	1	2.195	2.195	2.1946	10.50	0.004
Error	22	4.600	4.600	0.2091		
Total	27	19.179				

#### Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)
0.457249	76.02%	70.57%

#### Observaciones inusuales de Aminoacidos esenciales (mg/100m)

Obs	Aminoacidos esenciales (mg/100m)	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
11	0.412	1.424	0.206	-1.012	-2.48 R
26	3.282	2.358	0.206	0.924	2.26 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

### Análisis de varianza para Aminoacidos no esenciales (mg/1, utilizando SC ajustada para pruebas)

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tamaño	3	23.20	26.30	8.767	2.22	0.114
Beneficio	1	14.62	14.62	14.623	3.71	0.067
Extraccion	1	28.52	28.52	28.520	7.23	0.013
Error	22	86.81	86.81	3.946		
Total	27	153.15				

#### Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)
1.98647	43.32%	30.43%

#### Observaciones inusuales de Aminoacidos no esenciales (mg/1)

Aminoácidos no esenciales				Residuo		
Obs	(mg/1	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	estándar	
2	8.914	2.789	0.894	6.125	3.45	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

## Análisis de varianza para ACIDOS FENOLICOS, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tamaño	3	92.27	76.23	25.409	7.49	0.001
Beneficio	1	24.53	24.53	24.525	7.23	0.013
Extraccion	1	16.63	16.63	16.625	4.90	0.038
Error	22	74.66	74.66	3.393		
Total	27	208.08				

### Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)
1.84213	64.12%	55.97%

## Observaciones inusuales de ACIDOS FENOLICOS

ACIDOS FENOLICOS				Residuo		
Obs	FENOLICOS	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	estándar	
18	12.039	8.725	0.829	3.313	2.01	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

## Análisis de varianza para FLAVONOIDES, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tamaño	3	0.37255	0.14926	0.04975	4.41	0.014
Beneficio	1	0.75781	0.75781	0.75781	67.24	0.000
Extraccion	1	0.07606	0.07606	0.07606	6.75	0.016
Error	22	0.24794	0.24794	0.01127		
Total	27	1.45435				

### Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)
0.106160	82.95%	79.08%

## Observaciones inusuales de FLAVONOIDES

FLAVONOIDES				Residuo		
Obs	FLAVONOIDES	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	estándar	
18	0.7937	0.5403	0.0478	0.2533	2.67	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

## Análisis de varianza para Cafeína, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tamaño	3	139.61	87.12	29.038	7.91	0.001
Beneficio	1	94.23	94.23	94.230	25.67	0.000
Extraccion	1	63.77	63.77	63.769	17.37	0.000
Error	22	80.76	80.76	3.671		
Total	27	378.37				

### Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)
1.91598	78.66%	73.80%

## Observaciones inusuales de Cafeína

Obs	Cafeína	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar	
3	8.085	4.608	0.862	3.477	2.03	R
9	4.029	7.626	0.862	-3.597	-2.10	R
18	14.497	11.050	0.862	3.447	2.01	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

## Pruebas MANOVA para Tamaño

Criterio	Estadística de prueba	Approx F	GL		
			Núm	Denom	P
De Wilks	0.05551	3.142	24	44	0.000
Lawley-Hotelling	7.02643	4.001	24	41	0.000
De Pillai	1.57702	2.355	24	51	0.005
De Roy	5.51669				

s = 3 m = 2 n = 6.5

## Matriz SSCP (ajustada) para Tamaño

	pH	Brix	DPPH (um Trolox/ml)	Aminoácidos esenciales (mg/100m)	Aminoácidos no esenciales (mg/1)
pH	2.1388	-0.94008	-0.0017352	-2.2370	-5.5929
Brix	-0.9401	0.70333	0.0014500	1.7236	4.2639
DPPH (um Trolox/ml)	-0.0017	0.00145	0.0000031	0.0037	0.0087
Aminoácidos esenciales (mg/100m)	-2.2370	1.72357	0.0036597	4.5587	10.0762
Aminoácidos no esenciales (mg/1)	-5.5929	4.26386	0.0087094	10.0762	26.3012
ACIDOS FENOLICOS	-7.7277	6.77310	0.0147441	18.4225	39.2307
FLAVONOIDES	-0.3730	0.29917	0.0006460	0.8188	1.7204
Cafeína	-10.2352	7.47648	0.0157942	19.8841	43.4718
<b>ACIDOS</b>					
	<b>FENOLICOS</b>	<b>FLAVONOIDES</b>	<b>Cafeína</b>		
pH	-7.7277	-0.37299	-10.2352		
Brix	6.7731	0.29917	7.4765		
DPPH (um Trolox/ml)	0.0147	0.00065	0.0158		
Aminoácidos esenciales (mg/100m)	18.4225	0.81878	19.8841		
Aminoácidos no esenciales (mg/1)	39.2307	1.72041	43.4718		
ACIDOS FENOLICOS	76.2261	3.35833	79.8957		
FLAVONOIDES	3.3583	0.14926	3.5734		
Cafeína	79.8957	3.57340	87.1153		

## Matriz SSCP (ajustada) para error

	pH	Brix	DPPH (um Trolox/ml)	Aminoácidos esenciales (mg/100m)	Aminoácidos no esenciales (mg/1)
pH	0.51228	0.03710	-0.0003594	-0.1288	0.0908
Brix	0.03710	0.53690	0.0001554	0.4856	1.9153
DPPH (um Trolox/ml)	-0.00036	0.00016	0.0000023	-0.0000	-0.0014
Aminoácidos esenciales (mg/100m)	-0.12884	0.48561	-0.0000318	4.5997	10.4449
Aminoácidos no esenciales (mg/1)	0.09084	1.91533	-0.0014100	10.4449	86.8130

ACIDOS FENOLICOS	-1.25132	2.01084	0.0069201	3.9583	-2.4454
FLAVONOIDES	-0.03612	0.05347	0.0001647	0.3816	1.6476
Cafeína	-1.59841	2.26428	0.0065053	2.3202	0.4436

**ACIDOS**

	FENOLICOS	FLAVONOIDES	Cafeína
pH	-1.2513	-0.03612	-1.5984
Brix	2.0108	0.05347	2.2643
DPPH (um Trolox/ml)	0.0069	0.00016	0.0065
Aminoacidos esenciales (mg/100m)	3.9583	0.38159	2.3202
Aminoacidos no esenciales (mg/1)	-2.4454	1.64763	0.4436
ACIDOS FENOLICOS	74.6556	2.23337	68.4363
FLAVONOIDES	2.2334	0.24794	2.5409
Cafeína	68.4363	2.54086	80.7616

**Correlaciones parciales para la matriz SSCP de error**

	pH	Brix	DPPH (um Trolox/ml)	Aminoacidos esenciales (mg/100m)	Aminoacidos no esenciales (mg/1)
pH	1.00000	0.07073	-0.33027	-0.08393	0.01362
Brix	0.07073	1.00000	0.13953	0.30901	0.28055
DPPH (um Trolox/ml)	-0.33027	0.13953	1.00000	-0.00974	-0.09953
Aminoacidos esenciales (mg/100m)	-0.08393	0.30901	-0.00974	1.00000	0.52269
Aminoacidos no esenciales (mg/1)	0.01362	0.28055	-0.09953	0.52269	1.00000
ACIDOS FENOLICOS	-0.20234	0.31761	0.52678	0.21361	-0.03038
FLAVONOIDES	-0.10136	0.14655	0.21750	0.35732	0.35514
Cafeína	-0.24850	0.34386	0.47612	0.12038	0.00530

**ACIDOS**

	FENOLICOS	FLAVONOIDES	Cafeína
pH	-0.20234	-0.10136	-0.24850
Brix	0.31761	0.14655	0.34386
DPPH (um Trolox/ml)	0.52678	0.21750	0.47612
Aminoacidos esenciales (mg/100m)	0.21361	0.35732	0.12038
Aminoacidos no esenciales (mg/1)	-0.03038	0.35514	0.00530
ACIDOS FENOLICOS	1.00000	0.51911	0.88136
FLAVONOIDES	0.51911	1.00000	0.56781
Cafeína	0.88136	0.56781	1.00000

**Pruebas MANOVA para Beneficio**

Criterio	Estadística de prueba	GL			
		F	Núm	Denom	P
De Wilks	0.01448	127.611	8	15	0.000
Lawley-Hotelling	68.05938	127.611	8	15	0.000
De Pillai	0.98552	127.611	8	15	0.000
De Roy	68.05938				

$s = 1$   $m = 3$   $n = 6.5$

**Matriz SSCP (ajustada) para Beneficio**

	pH	Brix	DPPH (um Trolox/ml)	Aminoacidos esenciales (mg/100m)	Aminoacidos no esenciales (mg/1)
pH	18.8860	-5.2338	-0.0006829	9.9442	-16.6186
Brix	-5.2338	1.4504	0.0001892	-2.7558	4.6054

DPPH (um Trolox/ml)		-0.0007	0.0002	0.0000000	-0.0004	0.0006
Aminoacidos (mg/100m	esenciales	9.9442	-2.7558	-0.0003595	5.2360	-8.7503
Aminoacidos (mg/1	no esenciales	-16.6186	4.6054	0.0006009	-8.7503	14.6234
ACIDOS FENOLICOS		21.5218	-5.9642	-0.0007782	11.3320	-18.9379
FLAVONOIDES		3.7831	-1.0484	-0.0001368	1.9920	-3.3289
Cafeína		42.1857	-11.6907	-0.0015253	22.2124	-37.1211

**ACIDOS**

		<b>FENOLICOS</b>	<b>FLAVONOIDES</b>	<b>Cafeína</b>
pH		21.5218	3.78311	42.1857
Brix		-5.9642	-1.04840	-11.6907
DPPH (um Trolox/ml)		-0.0008	-0.00014	-0.0015
Aminoacidos (mg/100m	esenciales	11.3320	1.99195	22.2124
Aminoacidos (mg/1	no esenciales	-18.9379	-3.32893	-37.1211
ACIDOS FENOLICOS		24.5254	4.31109	48.0732
FLAVONOIDES		4.3111	0.75781	8.4504
Cafeína		48.0732	8.45036	94.2304

**Pruebas MANOVA para Extraccion**

<b>Criterio</b>	<b>Estadística de prueba</b>	<b>GL</b>			
		<b>F</b>	<b>Núm</b>	<b>Denom</b>	<b>P</b>
De Wilks	0.23055	6.258	8	15	0.001
Lawley-Hotelling	3.33743	6.258	8	15	0.001
De Pillai	0.76945	6.258	8	15	0.001
De Roy	3.33743				

$s = 1$   $m = 3$   $n = 6.5$

**Matriz SSCP (ajustada) para Extraccion**

		<b>pH</b>	<b>Brix</b>	<b>DPPH (um Trolox/ml)</b>	<b>Aminoacidos</b>	<b>Aminoacidos</b>
					<b>esenciales (mg/100m</b>	<b>no esenciales (mg/1</b>
pH		0.07100	0.04532	-0.0003151	-0.3947	-1.4230
Brix		0.04532	0.02893	-0.0002011	-0.2520	-0.9083
DPPH (um Trolox/ml)		-0.00032	-0.00020	0.0000014	0.0018	0.0063
Aminoacidos (mg/100m	esenciales	-0.39475	-0.25197	0.0017518	2.1946	7.9115
Aminoacidos (mg/1	no esenciales	-1.42304	-0.90833	0.0063151	7.9115	28.5204
ACIDOS FENOLICOS		-1.08648	-0.69350	0.0048216	6.0404	21.7751
FLAVONOIDES		-0.07349	-0.04691	0.0003261	0.4086	1.4728
Cafeína		-2.12787	-1.35822	0.0094430	11.8301	42.6465

**ACIDOS**

		<b>FENOLICOS</b>	<b>FLAVONOIDES</b>	<b>Cafeína</b>
pH		-1.0865	-0.07349	-2.1279
Brix		-0.6935	-0.04691	-1.3582
DPPH (um Trolox/ml)		0.0048	0.00033	0.0094
Aminoacidos (mg/100m	esenciales	6.0404	0.40856	11.8301
Aminoacidos (mg/1	no esenciales	21.7751	1.47282	42.6465
ACIDOS FENOLICOS		16.6252	1.12448	32.5603
FLAVONOIDES		1.1245	0.07606	2.2023
Cafeína		32.5603	2.20230	63.7693

